



Université Nangui Abrogoua

République de Côte d'Ivoire
Union-Discipline-Travail
Ministère de l'Enseignement Supérieur et
de la Recherche Scientifique



Université Nangui Abrogoua

UFR des Sciences et
Technologies des Aliments

Année Universitaire
2012-2013

Numéro d'ordre
xx

Soutenue publiquement
Le 23 -07- 2013

THÈSE

pour l'obtention du grade de Docteur en Sciences et Technologies
des Aliments de l'Université Nangui Abrogoua

Spécialité : Microbiologie et Sécurité alimentaire

Présentée par

TRAORE Sylvain Gnamien

THEME :

**RISQUES DE CONTRACTION DES
AFFECTIONS A *VIBRIO* SP. ET A
PARAGONIMUS SP. LIES A LA
CONSOMMATION DES CRABES ET DES
CREVETTES VENDUS SUR LES MARCHES
D'ABIDJAN ET DE DABOU**

Commission d'examen :

Président:

- Monsieur KOUAME Patrice, Professeur titulaire, UNA

Co-directeurs :

- Madame KOUSSEMON Marina épse CAMARA, Maître de conférences, UNA

- Monsieur Bassirou BONFOH, Maître de Recherches, CSRS

Rapporteurs :

- Monsieur N'GORAN Kouakou Eliézer, Professeur titulaire, UFHB

- Monsieur OUHON Jean, Professeur agrégé de Parasitologie-Mycologie, UFHB

Examineurs

- Madame DOGBO Denezon Odette, Maître de conférences, UNA

- Madame KACOU Adèle épse N'DOUBA, Professeur titulaire, UFHB

DEDICACE

Je dédie ce présent document :

A L'éternel des armées

Créateur du ciel et de la terre, celui qui fait sortir le pain de la terre et l'eau du rocher, par qui tout est possible, à qui je demande de me donner la sagesse de concevoir tout ce qui est juste et bon, la volonté de l'accomplir et la force de le défendre en tout lieu et en toute circonstance.

A ma famille

A mon père TRAORE Yéouho et à ma mère TOURE Kinaton pour tous les sacrifices consentis pour mon épanouissement spirituel, intellectuel et moral. Je vous aime et vous remercie pour votre patience, vos prières et vos encouragements. Que notre seigneur Jésus-Christ vous bénisse et vous garde longtemps afin que vous puissiez voir tous vos petits enfants s'épanouir.

A mes sœurs TRAORE Chantal, TRAORE Philomène, TRAORE Modestine, mon frère TRAORE Stéphane et à mes nièces Grâce et Eléonore sans oublier ma regrettée tante Celine TOURE, mes regrettées grandes sœurs adorées TRAORE Aimée, TRAORE Constance et mes regrettés cousins HALA Gnamien Jean-Marie et TRAORE Martin.

A ma chérie

Mandoussou TRAORE, durant ces interminables années, tu n'as cessé de m'apporter le réconfort et le soutien nécessaire pour le bon déroulement de mes études. Tu as su transformer mes doutes en espoir. Trouve dans ce travail l'expression de toute ma reconnaissance et de tout mon amour. Que le Dieu de Jacob veille sur nous et nous assiste.

REMERCIEMENTS

Si l'Éternel ne bâtit la maison, ceux qui la bâtissent travaillent en vain. Que la gloire et l'honneur lui soient rendus pour le financement, la réalisation de ce document et pour tous ses bienfaits.

Cette recherche doctorale a en effet bénéficié de l'appui financier du PASRES (Programme d'Appui Stratégique à la Recherche Scientifique en Côte d'Ivoire), de l'IFS (International Foundation for Science), de la commission fédérale des bourses pour étranger de la confédération Suisse, du projet Afrique One, du Centre Suisse de Recherches Scientifique en Côte d'Ivoire (CSRS), du projet Safe Food Fair Food 1 grâce à ILRI (International Livestock Research Institute) et la GIZ/BMZ.

Nous tenons à adresser nos sincères remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire et à notre formation académique.

Nous formulons ainsi des remerciements à l'endroit du professeur TANO Yao Serge, président de l'Université Nangui Abrogoua ainsi qu'au professeur KOUAME Patrice, Doyen de l'UFR-STA pour avoir accepté notre inscription en thèse unique à l'UFR des Sciences et Technologies des Aliments (STA).

Nous sommes spécialement reconnaissants au Professeur Marina KOUSSEMON-CAMARA qui a bien voulu accepter la direction de cette thèse et qui nous a toujours encouragé, soutenu, guidé et fait confiance depuis notre Maîtrise. Nous vous devons beaucoup pour la contribution scientifique que vous avez apportée à cette thèse.

Nous ne saurions poursuivre sans toutefois exprimer notre profonde gratitude au Professeur Marcel TANNER, directeur de l'Institut Tropical et de santé Publique Suisse (Swiss TPH), Leading House du Centre Suisse de Recherches Scientifiques (CSRS). Nous vous devons beaucoup, sans votre bienveillance nous ne serions certainement pas au CSRS et nous n'aurions pas pu travailler dans de meilleures conditions.

Nous sommes également spécialement reconnaissants au Professeur Bassirou BONFOH, directeur du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS) et co-directeur de cette thèse qui n'a cessé de nous soutenir, de nous guider et nous encourager tout au long de cette thèse. Nous tenons à vous remercier pour la contribution scientifique que vous avez apportée à cette thèse et pour toute la confiance que vous nous avez accordée.

Nos remerciements et notre sincère gratitude vont à l'endroit du Professeur Peter ODERMATT et du Professeur Jürg UTZINGER, tous deux épidémiologistes en Santé Publique à l'Institut Tropical et de Santé Publique Suisse (Swiss TPH) pour leur

disponibilité, leurs conseils et surtout pour leurs précieux appuis scientifiques lors de la rédaction des articles scientifiques. Nous n'oublierons jamais votre contribution scientifique et votre soutien durant notre stage à l'Institut Tropical et de Santé Publique de Bâle.

Nous remercions particulièrement le Professeur Guéladio CISSE, Environnementaliste en Santé Publique à l'Institut Tropical et de Santé Publique Suisse (Swiss TPH) pour ses conseils avisés, son soutien et pour avoir adopté ce projet de recherche dès notre arrivée au Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire.

Nous remercions vivement le docteur SANGARE Yaya, Secrétaire exécutif du PASRES pour ses précieux conseils, ses encouragements, sa compréhension et toute l'attention qu'il nous a accordée. Nous n'oublions pas le Professeur SANGARE pour les conseils qu'il nous a prodigués lors des évaluations de notre projet de recherche.

Nous adressons nos vifs remerciements au Professeur Aka ASSOUMOU, au Professeur Koffi ADOUBRYN et au Docteur David AKA pour nous avoir accueillis au laboratoire de Parasitologie de l'UFR des Sciences Médicales d'Abidjan et pour l'appui scientifique qu'ils nous ont apporté en parasitologie.

Nous remercions très sincèrement le Professeur Gilles DREYFUSS, le Professeur Roger MOYOU-SOMO, le Professeur YUKIFUMI Nawa, le Professeur David BLAIR, le Professeur Joachim FREY, le Professeur Jacob ZINSSTAG, le docteur Esther SCHELLING, le docteur Makita KOHEI et le Professeur Marie-Laure QUILLICI pour les encouragements et tout l'appui scientifique dont nous avons bénéficié depuis respectivement l'Université de Limoges, la faculté de Médecine et des Sciences Biomédicales de Yaoundé, la faculté de Médecine de Miyazaki au Japon, l'Université James Cook d'Australie, l'Institut de Bactériologie Vétérinaire de l'Université de Berne, l'Institut Tropical et de Santé Publique Suisse (TPH), l'Université Rakuno Gakuen et l'Institut Pasteur de Paris.

Nous sommes très reconnaissants au docteur Solenne COSTARD pour la modélisation stochastique ainsi qu'au docteur Xavier DING pour la contribution scientifique.

Nous adressons nos remerciements aux directeurs de département du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS), le docteur DAO Daouda, le Professeur KONE Inza et le Docteur Giovana RASO pour leurs conseils avisés et leur aide.

Nous exprimons nos sincères remerciements aux membres du groupe de recherche Nutrition, Qualité et Analyse des risques du CSRS en particulier mademoiselle Regina

KRABI pour son immense contribution dans les analyses bactériologiques des crustacés, le Professeur KONE Mamidou, le Docteur KONAN Georgette, le Docteur AKE Yolande, le Docteur NINDJIN Charlemagne, monsieur YOBOUET Bassa Antoine, madame KOUAME-SINA Sylvie Mireille, monsieur YAO Konan, Monsieur AHOUA Rémi, Mademoiselle YAPO Rachelle et monsieur KONE Bognan Valentin pour leur aide et leur soutien.

Nous n'oublions pas de remercier tous les chercheurs du CSRS pour leur sympathie et leurs conseils avisés notamment, le Professeur KOUDOU Benjamin, le Docteur KONE Brama, le Docteur Nicolas BETSI, le professeur DONGO Kouassi, le docteur SILUE Dieudonné, le docteur Gilbert FOKOU, le docteur Mathurin KOFFI, le docteur TCHICAYA Emile, le docteur COULIBALY Jean et le docteur ESSO.

Nos remerciements vont également à l'endroit de tout le personnel du CSRS et de ses services en particulier le secrétariat, la communication, le service comptabilité, la caisse et les ressources humaines et moyens généraux.

Notre gratitude et nos sincères remerciements vont à l'endroit de monsieur TRAORE Mahamadou, de madame IRIE, de monsieur TOURE Sadikou et de monsieur KOUADIO Brou pour leur précieuse assistance technique et leur aide lors des analyses bactériologiques et parasitologiques des crustacés, des crachats et des selles.

Nous remercions très sincèrement monsieur KOUAKOU Etienne, monsieur SILUE Bétio, Docteur DIOMANDE Métangbo, Docteur Olivier KOUADIO, Docteur KOUASSI KOUASSI Clément, monsieur KOUAKOU Boris et monsieur YEO souleymane pour l'aide apportée dans la réalisation du PowerPoint, des cartes des sites d'études et les figures.

Nous remercions chaleureusement toutes les personnes avec qui nous avons collaboré lors de la réalisation de l'étude épidémiologique sur la paragonimose au Centre Antituberculeux (CAT) d'Adjamé, en particulier le Docteur Karamoko TOURE, directeur de ce centre, monsieur KONATE Ladji responsable du laboratoire de bactériologie et monsieur ANGOUA technicien au sein de ce laboratoire. Nous tenons à remercier également le Directeur du CAT de Treichville, le docteur TRAORE Mahamadou, le Docteur COULIBALY sous-directeur de ce CAT, monsieur KOFFI responsable du laboratoire de bactériologie de ce centre et monsieur KOKOLA, pour nous avoir permis de réaliser l'étude épidémiologique sur la paragonimose au sein de cet établissement. Nous formulons aussi des remerciements à l'endroit de l'inspectrice de l'enseignement primaire

de Dabou, des directeurs des écoles primaires de N’Gatty et d’Allaba et de l’infirmier de l’hôpital de N’Gatty.

Nous n’oublions pas les patients des centres antituberculeux d’Adjamé et de Treichville et les élèves des écoles primaires d’Allaba et de N’Gatty pour leur participation à l’étude.

Nous n’oublions pas aussi de remercier tous les ménages que nous avons enquêtés à Abidjan, les vendeuses de crustacés et toutes les femmes qui ont accepté de participer aux différents Focus Group Discussions.

Nos remerciements vont à l’endroit de notre belle famille, de nos tantes TRAORE Sita, TIO Alice, nos cousins et cousines, Hamed DIOMANDE et Madame ABALO, de notre oncle TIO Kamangnini Alphonse et de nos tontons DIARRA Mamadou, Jérôme et ABALO Germain pour leurs encouragements et leur soutien

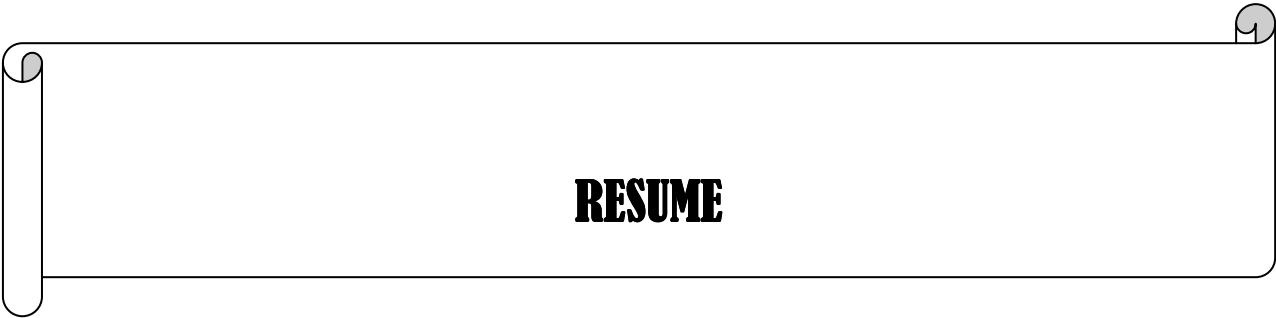
Nous n’oublions pas nos collègues et nos amis en Côte d’Ivoire et en Suisse, particulièrement, Jérôme N’DRI, Christian BOLOU, Vénance KOUADIO, Armand Villard OUREGA, Loïs DJOMAN et Désiré GADOU pour leur aide et leur soutien moral.

Nous souhaitons remercier le président du conseil scientifique de l’UFR STA, ses collaborateurs et tous nos enseignants qui ont contribué de près ou de loin à notre formation et que nous n’avons pas pu citer ici.

Nous ne saurions terminer sans toutefois remercier le président du jury, les rapporteurs et les examinateurs de cette thèse pour le temps qu’ils auront consacré à la lecture de ce document.

Ainsi, nos sincères remerciements vont à l’endroit du Professeur KOUAME Patrice (Président du Jury), du Professeur N’GORAN Kouakou Eliézer (Rapporteur), du Professeur Ouhon Jean (Rapporteur), du Prof KACOU N’DOUBA Adèle (Examineur) et du Professeur DOGBO Denezon Odette (Examineur).

Enfin, que tous ceux qui de près ou de loin qui nous ont apporté une aide quelconque mais que nous n’avons pas pu citer ici, nous en excusent et soient remerciés.



Les fruits de mer pêchés de façon traditionnelle et vendus sur les marchés en Côte d'Ivoire ne sont soumis à aucune inspection en vue de garantir leur innocuité. Cette étude a été initiée afin d'évaluer le risque sanitaire lié à leur consommation en rapport avec la contraction de la paragonimose et des infections à *Vibrio*. Ainsi, une recherche de *Vibrio* et de métacercaires de *Paragonimus* a été effectuée dans les crabes des genres *Callinectes* et *Cardiosoma* et dans les crevettes des genres *Penaeus* et *Macrobrachium* prélevés sur le principal marché de Dabou et sur six principaux marchés d'Abidjan. L'identification par PCR des souches présomptives de *Vibrio* isolées des crustacés a montré que seuls les crabes *Callinectes* et les crevettes *Penaeus* étaient contaminés par *Vibrio* (7,8%). Les espèces de *Vibrio* identifiées sont *V. cholerae* non O1; non O139 (24%), *V. parahaemolyticus* (36%) et *V. alginolyticus* (40%). L'identification morphologique des métacercaires isolées des crustacés a révélé l'absence de *Paragonimus* mais une prévalence d'infestation des crabes *Callinectes* et *Cardisoma* de 11,8% par des métacercaires d'autres trématodes. En outre, les deux enquêtes épidémiologiques sur la paragonimose humaine réalisées dans les centres antituberculeux d'Adjamé et de Treichville et dans deux écoles primaires (Dabou), n'ont pas permis d'observer des cas de paragonimose. De plus une prévalence de 22,3% de la tuberculose pulmonaire a été trouvée chez les patients et des helminthes et protozoaires intestinaux ont été retrouvés dans leurs selles et dans celles des élèves. Ces enquêtes ont permis aussi de remarquer que les élèves et les patients consomment les crustacés dans des sauces après une cuisson suffisante. Les potentiels facteurs de risque d'infections à *Vibrio* liés à la consommation et aux traitements des crabes et crevettes vendus sur les principaux marchés d'Abidjan et de Dabou sont essentiellement le mode de cuisson, la contamination croisée entre les crustacés et les légumes dans le panier de la ménagère, la fréquence de consommation des crustacés, les conditions et la durée de vente des crustacés, la consommation journalière des crustacés par certains ménages, la courte durée de cuisson des crustacés et la consommation de la moitié d'un crabe plat par personne au sein de certains ménages. Une évaluation de l'exposition au risque de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* a montré grâce à une modélisation stochastique que la probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat est 0, 013.

Mots clés: *Paragonimus*, *Vibrio*, crabes, crevettes, protozoaires, helminthes, tuberculose, modélisation stochastique.

Seafood fished traditionally and sold in informal markets of Côte d'Ivoire is not inspected to ensure their safety. This study has been initiated to assess the health risk associated with their consumption related to contraction of paragonimiasis and *Vibrio* infection. Thus, a study by looking for *Vibrio* and metacercariae of *Paragonimus* has been performed in crabs, *Callinectes* and *Cardiosoma* genus but also in shrimps, *Penaeus* and *Macrobrachium* genus, taken from the main market of Dabou town and six major informal markets of Abidjan. The identification by PCR of *Vibrio* strain isolated from crustaceans showed that only the *Callinectes* genus of crabs and *Penaeus* genus of the shrimp were contaminated by *Vibrio* (7.8%). The *Vibrio* species identified are *V. cholerae* non-O1, non-O139 (24%), *V. parahaemolyticus* (36%) and *V. alginolyticus* (40%). The morphological identification of metacercariae isolated from crustaceans revealed absence of *Paragonimus* but a prevalence of infestation of crabs *Callinectes* and *Cardisoma* at 11.8% by metacercariae of other trematode. In addition, two epidemiological surveys conducted on paragonimiasis in TB centers of Adjamé and Treichville, in Abidjan and two primary schools in Dabou failed to observe cases of paragonimiasis. A prevalence of 22.3% of pulmonary tuberculosis has been found among patients of TB centers and helminths and intestinal protozoa were found in their feces and those of students. These two cross-sectional surveys have also permitted to notice that students and patients consume crustaceans in sauce after proper cooking. Potential risk factors associated with *Vibrio* consumption and treatment of crabs and shrimp sold in markets of Abidjan and Dabou are mainly cooking process, cross-contamination of crustaceans and vegetables in food basket, frequency of consumption of crustaceans, conditions and duration of selling crustaceans, daily consumption of crustaceans by some households, short duration of cooking crustaceans and consumption of half of crab by person in some households. An assessment of exposure to consumption of crustaceans contaminated with *Vibrio* showed through stochastic modeling that the daily probability of consumption of contaminated crustaceans by *Vibrio* at the time of purchase is 0.013.

Keywords: *Paragonimus*, *Vibrio*, crabs, shrimps, protozoa, helminths, tuberculosis, stochastic modeling.

AVANT-PROPOS

Si les produits de pêche qui sont mis en conserve subissent un contrôle sanitaire dans le but de protéger le consommateur, les crabes et les crevettes qui sont pêchés de façon artisanale et vendus sur nos marchés en Côte d'Ivoire, ne sont soumis à aucune inspection en vue de garantir leur innocuité. Comme les résultats de notre DEA ont montré que l'espèce de crabe *Callinectes amnicola* est fortement contaminée par les *Clostridium perfringens* et les coliformes fécaux, nous avons voulu rechercher d'autres germes pathogènes pour mieux appréhender la qualité des crustacés vendus sur nos marchés. Il nous a semblé opportun de proposer à nos maîtres de rechercher dans les crustacés (crabes et crevettes) vendus sur nos marchés, les bactéries appartenant au genre *Vibrio* et les trématodes notamment ceux appartenant au genre *Paragonimus* qui est à l'origine d'une trématodose alimentaire méconnue et souvent confondue à la tuberculose.

Le groupe de recherche Nutrition, Qualité et Analyse des risques que nous avons intégré au sein du département Environnement et Santé du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS) s'est avéré utile pour l'évaluation du risque de contraction des infections à *Vibrio* et à *Paragonimus* suite à la consommation des crabes et des crevettes frais vendus sur les principaux marchés d'Abidjan et de Dabou. L'approche Analyse Participative des risques qui est un outil intersectoriel performant d'évaluation et de prédiction des risques nous a permis d'échanger avec les consommateurs de crustacés grâce aux Focus group discussions afin de mieux appréhender le risque sanitaire lié à la consommation des crustacés vendus sur les marchés.

Ces travaux de thèse sur la recherche d'une part, de *Vibrio* et de métacercaire de *Paragonimus* dans les crustacés et d'autre part, d'œufs de *Paragonimus* dans les selles et les crachats que nous avons effectués au laboratoire de Parasitologie de l'UFR des Sciences Médicales d'Abidjan et aux laboratoires de Microbiologie et de Parasitologie du CSRS d'Août 2008 à Décembre 2010, s'inscrivent bien dans le souci de l'UFR des Sciences et Technologies des Aliments (STA) de l'Université Nangui Abrogoua qui est de former des professionnels de la qualité et de la sécurité alimentaire.

La recherche de la tuberculose pulmonaire et de la paragonimose humaine chez les patients et les élèves a été réalisée avec les accords du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique de Côte d'Ivoire (MESRS, décision N° 171), du Programme National de Lutte contre la Tuberculose (PNLT) et de la Commission Nationale d'Ethique ivoirienne (CNE, décision N° 1176 MSHP).

Nos travaux qui traitent de la problématique des zoonoses à l'interface entre l'animal (crabe et crevette), l'homme (consommateur de crustacés) et l'environnement

(lagune Ebrié) avec comme indicateurs *Paragonimus* et *Vibrio* s'inscrivent dans le concept « One Health ».

Selon la Commission de l'Union européenne, le concept One Health se définit comme « L'amélioration de la santé et du bien-être à travers (i) la prévention des risques et l'atténuation des effets des crises qui proviennent à l'interface entre les humains, les animaux et leurs environnements différents, et (ii) promouvoir une approche intersectorielle, en collaboration, approche de dangers pour la santé, comme un changement de perspective systémique de la gestion des risques ».

L'approche « Une seule santé » (One Health) propose d'aborder conjointement la santé humaine, la santé animale et l'environnement. L'initiative « Une seule santé » est fondée sur le constat que dans une planète interconnectée et subissant des changements écologiques et climatiques importants, la santé, qu'elle soit humaine, animale ou environnementale, est une. Elle recommande de conduire des recherches interdisciplinaires, de mener des programmes de santé publique communs à l'homme et à l'animal, ainsi que des actions de formation et d'éducation à la santé.

TABLE DES MATIERES

DEDICACE	I
REMERCIEMENTS	III
RESUME	VIII
AVANT-PROPOS	XI
TABLE DES MATIERES	XIV
LISTE DES TABLEAUX	XXII
LISTE DES FIGURES	XXV
LISTE DES ABREVIATIONS.....	XXVIII
INTRODUCTION	1
PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	6
I. Généralités sur les crustacés	7
1. Reconnaissance et production des crustacés	7
1.1. Définition et répartition des crustacés	7
1.2. Morphologie externe des crustacés	7
1.3. Production des crustacés.....	8
1.4. Valeur nutritionnelle et composition chimique des crustacés	8
1.5. Sexe chez les crabes et les crevettes.....	9
2. Milieux lagunaires de pêche des crustacés en Côte d'Ivoire	9
3. Crabes et crevettes pêchés en Côte d'Ivoire.....	10
3.1. Crabes du genre <i>Callinectes</i> et leurs différences morphologiques	10
3.1.1. <i>Callinectes amnicola</i>	10
3.1.2. <i>Callinectes pallidus</i>	14
3.1.3. <i>Callinectes marginatus</i>	14
3.2. Crabe <i>Cardisoma armatum</i>	14
3.3. Crevettes du genre <i>Penaeus</i> et leurs différences morphologiques	16
3.3.1. <i>Penaeus notialis</i>	16
3.3.2. <i>Penaeus kerathurus</i>	16
3.4. Crevettes du genre <i>Macrobrachium</i> et leurs différences morphologiques	16
3.4.1. <i>Macrobrachium vollenhovenii</i>	19
3.4.2. <i>Macrobrachium macrobrachion</i>	19
II. Généralités sur les pathologies dues à la consommation des fruits de mer.....	21
1. Choléra et infections à vibrions non cholériques.....	21
1.1. Bactéries du choléra et des infections à vibrions non cholériques	22

1.2. Pouvoir pathogène et toxigène des bactéries impliquées dans le choléra et les infections à vibrions non cholériques.....	26
1.2.1. <i>V. cholerae</i> O1 et O139.....	26
1.2.2. <i>Vibrio cholerae</i> non O1 et non O139	27
1.2.3. <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	28
1.2.4. <i>Vibrio vulnificus</i>	29
1.2.5. <i>Vibrio alginolyticus</i>	30
1.2.6. <i>Vibrio mimicus</i>	30
2. Paragonimose	31
2.1. Définition	31
2.2. Agents pathogènes	31
2.2.1. Position systématique	31
2.2.2. Genre <i>Paragonimus</i>	31
2.2.3. Morphologie	31
2.2.3.1. <i>Paragonimus africanus</i>	32
2.2.3.2. <i>Paragonimus uterobilateralis</i>	32
2.2.4. Œufs et stades larvaires de <i>Paragonimus</i>	34
2.2.4.1. Œufs de <i>Paragonimus</i> sp.....	34
2.2.4.2. Miracidium	34
2.2.4.3. Cercaires	34
2.2.4.4. Métacercaires.....	36
2.2.5 Cycle biologique de <i>Paragonimus</i>	36
2.3. Hôtes intermédiaires de <i>Paragonimus</i> sp.	38
2.3.1. Gastéropodes	38
2.3.2. Crustacés.....	38
2.4. Hôtes définitifs de <i>Paragonimus</i> sp.	38
2.5. Distribution géographique de la paragonimose humaine.....	42
2.6. Manifestations cliniques.....	44
2.7. Facteurs de risque de la paragonimose humaine.....	44
2.7.1. Facteurs socio-culturels	44
2.7.1.1. Habitudes alimentaires	44
2.7.1.2. Habitudes non alimentaires	45
2.7.2. Facteurs écologiques et environnementaux	45
2.7.3. Facteurs liés à la migration des populations.....	46

III. Généralités sur l'analyse des risques	47
1. Définitions	47
1.1. Analyse du risque	47
1.2. Danger	47
1.3. Risque	47
2. Différents concepts de l'analyse des risques	47
2.1. Analyse des risques selon le Codex Alimentarius	48
2.1.1. Evaluation du risque	48
2.1.1.1. Identification des dangers	48
2.1.1.2. Evaluation de l'exposition	50
2.1.1.3. Caractérisation des dangers ou évaluation du rapport dose-effet	50
2.1.1.3.1 Modèles empiriques.....	51
2.1.1.3.2 Modèles mécanistiques.....	51
2.1.1.4. Caractérisation des risques	53
2.1.2. Gestion des risques	54
2.1.3. Communication sur les risques.....	54
2.2. Analyse des risques selon l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE)	54
2.3. Analyse participative des risques	54
3. Réalisation de l'analyse des risques	57
DEUXIEME PARTIE: MATERIEL ET METHODES	59
I. Matériel.....	60
1. Matériel biologique.....	60
2. Réactifs et milieux de culture	61
3. Appareil et équipement.....	62
II. Méthodes	62
1. Sites d'études.....	62
2. Enquête auprès des ménages et des vendeuses de crustacés pour la détermination des potentiels facteurs de risques d'infections à <i>Vibrio</i> liés aux traitements et à la consommation des crustacés	66
2.1. Calcul de la taille des échantillons de ménages enquêtés à Abidjan.....	66
2.2. Critères d'inclusion des ménages	67
2.3. Critères de non inclusion des ménages	67
2.4. Réalisation de l'enquête ménage	67

2 5. Enquête auprès des vendeuses de crustacés	68
3. Recherche de <i>Vibrio</i>, de métacercaires de <i>Paragonimus</i> et celles d'autres trématodes dans les crustacés	69
3.1. Echantillonnage des crustacés sur les marchés.....	69
3.1.1. Taille des échantillons de crustacés pour la recherche de <i>Vibrio</i>	69
3.1.2. Taille des échantillons de crustacés pour la recherche de métacercaires de <i>Paragonimus</i> et celles d'autres trématodes	69
3.1.3. Technique de prélèvement et transport des crustacés.....	69
3.1.4. Mesure de la température de vente des crustacés	70
3.2. Recherche de <i>Vibrio</i> dans les crustacés	70
3.2.1. Préparation de la suspension-mère et des dilutions décimales	70
3.2.2. Dénombrement de <i>Vibrio</i>	71
3.2.3. Isolement des <i>Vibrio</i>	71
3.2.4. Identification morphologique et biochimique	72
3.2.5. Identification des souches présomptives de <i>Vibrio</i> par galeries API 20 E.....	74
3.2.5. Identification des souches présomptives de <i>Vibrio</i> par galeries API 20 E.....	74
3.2.6. Conservation des souches de <i>Vibrio</i>	74
3.2.7. Caractérisation moléculaire des espèces de <i>Vibrio</i> identifiées par la galerie API 20 E	74
3.2.7.1. Extraction de l'ADN bactérien	74
3.2.7.2. Confirmation de l'identification des espèces de <i>Vibrio</i> par PCR.....	75
3.2.7.3. Sérotypage des souches de <i>Vibrio cholerae</i>	77
3.2.7.4. Recherche de facteurs de pathogénicité chez les espèces de <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>V. alginolyticus</i> et <i>V. cholerae</i>	77
3.3. Recherche de métacercaires de <i>Paragonimus</i> et de métacercaires d'autres trématodes dans les crustacés	80
4. Détermination du risque d'infection à <i>Vibrio</i> lié à la consommation des crustacés par l'évaluation participative du risque	80
4.1. Modèle utilisé pour l'évaluation du risque.....	80
4.2. Réalisation des « focus groups discussions » ou groupes de discussions	82
4.3. Evaluation du risque	82
4.3.1. Identification du danger	82
4.3.2. Evaluation de l'exposition au risque	82
4.3.3. Evaluation du rapport dose-effet et la caractérisation du risque	84

5. Recherche de la paragonimose chez les patients des CAT et chez les élèves des deux écoles primaires de Dabou	84
5.1. Echantillonnage des patients et des élèves.....	84
5.1.1. Calcul de la taille des échantillons de patients et des élèves	84
5.1.2. Critères d'inclusion des patients et des élèves.....	85
5.1.3. Critères de non inclusion des patients et des élèves	85
5.1.4. Prélèvement des échantillons des patients et des élèves et collecte de données sur leur consommation de crustacés	85
5.2. Recherche du Bacille de Koch (BK) dans les crachats des patients.....	86
5.3. Recherche d'œufs de <i>Paragonimus</i> et d'autres parasites dans les crachats et les selles des patients	86
5.4. Recherche d'œufs de <i>Paragonimus</i> et d'autres parasites pathogènes dans les selles des élèves.....	87
6. Analyse statistique	88
TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION.....	90
I. Potentiels facteurs de risques d'infections à <i>Vibrio</i> liés aux traitements des crustacés au cours de la vente et à la consommation des crustacés au niveau des ménages	91
1. Résultats	91
1.1. Potentiels facteurs de risques d'infections à <i>Vibrio</i> liés à la consommation des crustacés	91
1.1.1. Description des ménages et de leurs habitudes et techniques culinaires.....	91
1.1.2. Crustacés les plus consommés au niveau des ménages.....	93
1.1.3. Contact entre les crustacés et les autres aliments dans le panier de la ménagère	93
1. 2. Symptômes d'intoxication alimentaire observés au sein des ménages suite à la consommation des crustacés	93
1.3. Potentiels facteurs de risques d'infections à <i>Vibrio</i> liés aux traitements des crustacés	93
1.3.1. Mode de traitement des crustacés avant leur vente	93
1.3.2. Durée de vente des crustacés	94
1.3.3. Contenant de vente des crustacés	94
1.3.4. Eléments en contact avec les crustacés lors de leur vente	94
2. Discussion	98
Conclusion partielle.....	99
II. Présence de <i>Vibrio</i> dans les crustacés vendus sur les principaux marchés d'Abidjan et de Dabou	100

1. Résultats	100
1.1. Prévalence de la contamination des crustacés par <i>Vibrio</i>	100
1.2. Contamination des crustacés par <i>Vibrio</i> en fonction du marché de prélèvement	100
1.3. Température moyenne de prélèvement des crustacés et charge en <i>Vibrio</i>.....	102
1.4. Contamination des crustacés par <i>Vibrio</i> en fonction du sexe des crabes plats	102
1.5. Contamination des crustacés par <i>Vibrio</i> selon la provenance	102
1.6. Espèces de <i>Vibrio</i> identifiées des crustacés par PCR	103
1.7. Espèces de <i>Vibrio</i> identifiées en fonction du type de crustacés.....	103
1.8. Absence de gènes de virulence dans les espèces de <i>Vibrio cholerae</i>, <i>Vibrio alginolyticus</i> et <i>Vibrio parahaemolyticus</i> identifiées par PCR.....	103
2. Discussion	111
Conclusion partielle.....	112
III: Présence de métacercaires de trématodes dans les crustacés vendus sur les principaux marchés d'Abidjan et de Dabou	113
1. Résultats	113
1.1. Prévalence de l'infestation des crustacés par les métacercaires de trématodes	113
1.2. Contamination des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction du marché de prélèvement.....	113
1.3. Contamination des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction de la provenance	116
1.4. Contamination des crabes par des métacercaires de trématodes en fonction du sexe	116
2. Discussion	118
Conclusion partielle.....	119
IV. Risque d'infection à <i>Vibrio</i> lié à la consommation des crustacés.....	120
1. Résultats	120
1.1. Evaluation du risque	120
1.1.1. Identification du danger	120
1.1.2. Evaluation de l'exposition	120
1.1.2.1. Paramètres de la distribution Béta	121
1.1.2.2. Probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par <i>Vibrio</i> au moment de leur achat.....	122
1.1.2.3. Analyse de la sensibilité du modèle 1	122

2. Discussion	125
Conclusion partielle.....	126
V. Présence du bacille tuberculeux dans les crachats des patients et de parasites intestinaux dans les selles des patients et des élèves	127
1. Résultats	127
1.1. Prévalence de la paragonimose humaine et de la tuberculose pulmonaire au niveau des patients des deux centres antituberculeux.....	127
1.2. Prévalence de la tuberculose pulmonaire au niveau des patients des deux centres antituberculeux en fonction de leur sexe.....	127
1.3. Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux au niveau des patients des deux centres antituberculeux	127
1.4. Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux en fonction du sexe des patients	130
1.5. Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux au niveau des élèves des deux écoles primaires de Dabou	130
1.6. Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux en fonction du sexe des élèves des deux écoles primaires de Dabou	130
1.7. Symptômes de la paragonimose humaine, habitudes alimentaires et culinaires des patients et des élèves interrogés	134
2. Discussion	137
Conclusion partielle.....	139
CONCLUSION GENERALE	140
RECOMMANDATIONS	140
PERSPECTIVES	140
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	140
ANNEXES	
PUBLICATIONS	
COMMUNICATIONS	

LISTE DES TABLEAUX

Tableau I: Composition chimique et valeur nutritionnelle des crustacés pour 100 grammes de partie comestible (FAO, 1979).....	12
Tableau II: Espèces de <i>Vibrio</i> potentiellement pathogènes pour l'homme (Quilici et Robert-Pillot, 2011).....	24
Tableau III: Caractéristiques des métacercaires chez <i>Paragonimus africanus</i> et <i>Paragonimus uterobilateralis</i>	36
Tableau IV: Distribution géographique et hôtes définitifs d'espèces de <i>Paragonimus</i> (Blair et al., 2007).....	41
Tableau V: Nombre de ménages enquêtés par commune	67
Tableau VI: Tests utilisés pour l'identification des souches de <i>Vibrio</i>	73
Tableau VII: Liste des amorces utilisées pour la caractérisation des souches de <i>Vibrio</i> ...	79
Tableau VIII : Caractéristiques socio-démographiques des ménages et leurs habitudes et techniques culinaires (n = 120).....	92
Tableau IX: Connaissance du choléra et de la paragonimose par les ménages et symptômes d'intoxication alimentaire liés à la consommation des crustacés au sein de ces ménages (n = 120)	96
Tableau X: Pourcentage de contamination des crustacés par <i>Vibrio</i> en fonction du genre	101
Tableau XI: Pourcentage de contamination des crustacés par <i>Vibrio</i> en fonction du marché de prélèvement.....	101
Tableau XII : Température moyenne de prélèvement et charge des crustacés en <i>Vibrio</i>	104
Tableau XIII: Prévalence de contamination des crabes plats par <i>Vibrio</i> en fonction de leur sexe	104
Tableau XIV: Pourcentage de contamination des crustacés par <i>Vibrio</i> en fonction de la provenance	105
Tableau XV: Liste des espèces de <i>Vibrio</i> identifiées par PCR	106
Tableau XVI: Pourcentage d'identification des <i>Vibrio</i> en fonction du type de crustacés	107
Tableau XVII: Espèces de <i>Vibrio</i> ne possédant pas les gènes codant pour la toxine cholérique et pour les hémolysines.....	108
Tableau XVIII: Pourcentage d'infestation des crustacés par les trématodes en fonction de leur genre	114
Tableau XIX: Pourcentage d'infestation des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction du marché de prélèvement	115

Tableau XX: Prévalence d'infestation des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction de leur provenance.....	117
Tableau XXI: Prévalence des métacercaires de trématodes en fonction du sexe des crabes plats.....	117
Tableau XXII: Distributions associées aux variables du modèle 1	123
Tableau XXIII: Probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par <i>Vibrio</i> au moment de leur achat.....	123
Tableau XXIV : Résultats de la recherche du bacille tuberculeux et de <i>Paragonimus</i> dans les crachats selon la répartition des patients dans les centres antituberculeux (n=278)	128
Tableau XXV: Répartition des personnes atteintes par la tuberculose selon le sexe.....	128
Tableau XXVI: Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux chez les patients des CAT (n = 278).....	129
Tableau XXVII: Répartition des patients infestés par les helminthes et les protozoaires selon le sexe.....	131
Tableau XXVIII : Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux chez les élèves	132
Tableau XXIX: Répartition des élèves infestés par les helminthes et les protozoaires selon le sexe	133
Tableau XXX: Caractéristiques de deux cohortes, facteurs potentiels de risque de la paragonimose et symptômes de cette parasitose	135

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Caractères distinctifs du sexe chez les crabes au niveau de leur abdomen.....	12
Figure 2 : Anatomie de <i>Callinectes</i> sp.	13
Figure 3 : <i>Callinectes amnicola</i>	13
Figure 4 : <i>Callinectes pallidus</i>	15
Figure 5 : <i>Callinectes marginatus</i>	15
Figure 6: <i>Cardisoma armatum</i>	17
Figure 7: Anatomie des crevettes	17
Figure 8 : <i>Penaeus notialis</i>	18
Figure 9: <i>Penaeus kerathurus</i>	18
Figure 10: <i>Macrobrachium vollenhovenii</i>	20
Figure 11: <i>Macrobrachium macrobrachion</i>	20
Figure 12: <i>Paragonimus</i> sp	33
Figure 13: Anatomie de <i>Paragonimus africanus</i> (face ventrale)	33
Figure 14: Œuf de <i>Paragonimus</i> sp.....	35
Figure 15: Miracidium de <i>Paragonimus</i> sp.....	35
Figure 16: Métacercarie de <i>Paragonimus africanus</i>	40
Figure 17 : Cycle de <i>Paragonimus</i> sp.	40
Figure 18: Carte de la distribution géographique de la paragonimose dans le monde.....	43
Figure 19 : Localisation géographique des pays africains dans lesquels des cas de paragonimose ont été détectés	43
Figure 20: Composantes de l'analyse de risque selon le <i>Codex Alimentarius</i>	49
Figure 21: Composantes de l'analyse de risque selon OIE	56
Figure 22: Concept d'analyse participative des risques	56
Figure 23: Photographies des crabes des genres <i>Cardisoma</i> (a) et <i>Callinectes</i> (b), et celles des crevettes des genres <i>Penaeus</i> (c) et <i>Macrobrachium</i> (d).....	60
Figure 24: Localisation géographique des grands marchés de prélèvement des crustacés à Abidjan et des CAT d'Adjamé et de Treichville	65
Figure 25: Localisation géographique du grand marché de Dabou et des deux écoles primaires de Dabou	65
Figure 26 : Arbre de défaillance sur le risque de contraction des infections à <i>Vibrio</i> au niveau des ménages.....	81
Figure 27: Crustacés les plus consommés par les ménages	95
Figure 28: Pourcentage des vendeuses de crustacés en fonction du délai de vente	95

Figure 29: Pourcentage des vendeuses de crustacés en fonction du mode de stockage des crustacés	97
Figure 30: Pourcentage des vendeuses de crustacés mettant des éléments en contact avec les crustacés lors de la vente	97
Figure 31: Confirmation de l'identification de 4 souches de <i>Vibrio cholerae</i> par la recherche du gène <i>16S/23S</i>	109
Figure 32: Profil montrant l'absence des gènes de pathogénicité <i>ctxA</i> et <i>ctxB</i> chez 4 souches de <i>Vibrio cholerae</i>	109
Figure 33: Confirmation de l'identification de <i>V. parahaemolyticus</i> par la recherche du gène <i>toxR</i>	110
Figure 34: Profil montrant l'absence des gènes de pathogénicité <i>tdh</i> et <i>trh</i> chez une souche de <i>Vibrio parahaemolyticus</i>	110
Figure 35: Photographie d'une métacercarie de trématode retrouvée dans un crabe.....	114
Figure 36: Analyse de sensibilité du modèle 11 pour savoir quel paramètre influence la probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par <i>Vibrio</i> sp. au moment de leur achat	124
Figure 37: Diagramme décrivant la participation à deux enquêtes épidémiologiques sur la paragonimose des patients de deux centres antituberculeux d'Abidjan (A) et des élèves de deux écoles primaires de Dabou (B) en 2009 et 2010.....	136

LISTE DES ABREVIATIONS

AFSCA	: Agence Fédérale pour la Sécurité de la Chaîne Alimentaire
AFSSA	: Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments
BK	: Bacille de Koch
BNETD	: Bureau National d'Études Techniques et de Développement
CAT	: Centre AntiTuberculeux
CHU	: Centre Hospitalier Universitaire
CI	: Côte d'Ivoire
CIRAD	: Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement
CNR	: Centre National de Référence
CSAO	: Club du Sahel et de l'Afrique de l'Ouest
DGAL	: Direction Générale de l'Alimentation
EPA	: Eau Peptonée Alcaline
FAO	: Food and Agriculture Organisation
HACCP	: Hazard Analysis of Critical Control Point
InVS	: Institut de Veille Sanitaire
LDC	: Lysine DéCarboxylase
ODC	: Ornithine DéCarboxylase
OMS	: Organisation Mondiale de la Santé
OIE	: Office International des Epizooties (Organisation Mondiale de la Santé Animale)
ONPG	: OrthoNitroPhénylGalactopyranoside
RM	: Rouge de Méthyle
TCBS	: Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose
TIAC	: Toxi-Infection Alimentaire Collective
UE	: Union Européenne
UFC	: Unités Formant Colonies
USD	: United States Dollar
VP	: Voges Proskauer

INTRODUCTION

Dans de nombreuses régions du monde, les produits de la pêche font partie du régime alimentaire des populations et constituent une importante source de protéine alimentaire. Cependant, ces produits sont pêchés dans des eaux de surface devenues vectrices et réceptrices de toute sorte de polluants (**Festy et al., 2003**). Selon le lieu de pêche, il est possible qu'un nombre de germes pathogènes puissent contaminer ces produits de la pêche.

Ainsi les produits de pêche peuvent transmettre des bactéries pathogènes dont certaines sont d'origine intestinale (*Salmonella* sp, *Clostridium perfringens*, *Clostridium botulinum*) et principalement des bactéries du genre *Vibrio* et *Clostridium* (**China et al., 2003**). Ils peuvent aussi provoquer des intoxications chez l'homme dont les plus fréquentes sont le scombrotisme (intoxication par histamino-formation dans la chair de poissons bleus) et la ciguatera liée à la production de ciguatoxines dans les poissons récifaux (**Haro, 2008**).

De plus, ces produits de pêche peuvent véhiculer des parasites (nématodes comme *Anisakis* agent de l'anisakidose ou *Diocotophyme renale* agent d'infections rénales, trématodes comme *Clonorchis sinensis*, agent de la distomatose à douve de Chine, *Echinostoma ilocanum* agent de l'échimostomose ou *Paragonimus* sp, agent de la paragonimose) (**Huss, 1996**).

Ces fruits de mer qui peuvent être contaminés après la pêche par des germes exposant les consommateurs à des dangers susceptibles de provoquer de graves affections alimentaires, posent souvent dans les pays tropicaux des problèmes tant hygiéniques que toxicologiques et économiques (**Diop et al., 2010**). Parmi ces dangers, les vibrions constituent un sujet de préoccupation, compte tenu du fait de certaines espèces bactériennes du genre *Vibrio*, considérées aujourd'hui comme des pathogènes émergents, qui sont impliquées dans les infections d'origine alimentaire chez l'homme après ingestion de produits de la pêche contaminés (**Cohen et Karib, 2007**). En effet, depuis quelques années, l'incidence des infections à *Vibrio parahaemolyticus* est en constante et régulière progression dans le monde (**Hara-Kudo et al., 2003**).

Ainsi pour protéger le consommateur, différentes technologies basées sur le froid, la chaleur ou utilisant des agents chimiques de conservation ont été développées afin d'étendre la durée de conservation des produits de la pêche (**Diop et al., 2010**). Des stratégies de prévention innovatrices ont été aussi mises au point pour assurer la sécurité sanitaire des aliments. Deux des plus importantes et des plus récentes sont l'analyse du

risque et le système HACCP pour l'analyse des dangers et la maîtrise des points critiques (FAO/OMS, 2002).

En dépit de ces efforts, on estime que dans les pays développés, un tiers de la population est victime chaque année de maladies d'origine alimentaire. La situation est encore plus grave dans les pays en développement où les cas signalés ne représentent que la partie visible de l'iceberg (Lebres, 2006).

L'incidence mondiale des maladies d'origine alimentaire est difficile à estimer. Dans la plupart des pays, la déclaration des maladies d'origine alimentaire n'est pas obligatoire et l'aliment incriminé est rarement conservé en vue de l'analyse et le véhicule de l'agent pathogène n'est pas identifié (Huss, 1996).

Mais il a été signalé que dans la seule année de 2005, 1,8 million de personnes sont mortes de maladies diarrhéiques. Une grande proportion de ces cas était attribuée à la contamination de nourriture et d'eau potable (OMS, 2007). En 2000, 56 pays ont rapporté 137 071 cas de choléra à l'OMS; 87 % des cas provenaient de l'Afrique (OMS, 2000).

Au Maroc, 7 118 cas de toxi-infections alimentaires collectives (TIAC) ont été rapportés entre 2000 et 2004 dont plus de 86 % sont d'origine bactérienne (Cohen *et al.*, 2006). Les produits de la pêche contaminés sont responsables de 10 % des cas de TIAC déclarés au Maroc (Anonyme 1, 2005). En Algérie, les toxi-infections alimentaires sont nombreuses, de l'ordre de 300 000 à 500 000 cas par an (de 1 à 1,7 % de la population), (Rastoin, 2007).

En Côte d'Ivoire, des cas de paragonimose humaine, une trématodose alimentaire confondue le plus souvent avec la tuberculose pulmonaire et due à la consommation de crabes crus ou mal cuits (Keiser et Utzinger, 2009), ont été détectés. En effet, le premier patient atteint de cette anthroponose alimentaire a été dépisté en 1975 et par la suite, quatorze autres cas ont été rapportés jusqu'en 1999 (Aka *et al.*, 1995 ; Adoubryn *et al.*, 1999). Des études épidémiologiques effectuées sur cette maladie de 2004 à 2006 au centre antituberculeux de la ville de Divo (au sud-ouest), au Centre Hospitalier Régional de Lakota (sud-ouest) et au centre de santé rural de l'île de Lauzoua (au sud) ont permis de trouver respectivement aucun cas sur 167 patients, 3 cas sur 92 patients (3,26%) et 5 cas sur 17 patients (29,41%), (Aka *et al.*, 2008 a ; Aka *et al.*, 2008 b ; Aka *et al.*, 2009).

En 1985, une épidémie de diarrhée est apparue en Côte d'Ivoire au cours des mois de fortes précipitations (juin, juillet), causée principalement par *Vibrio parahaemolyticus* (Tiékoura *et al.*, 2010). En 2001, des foyers de choléra, occasionnant des pertes en vie humaine, ont été déclarés dans plusieurs régions et villes du pays (Tanon *et al.*, 2004). De

2001 à 2005, 11 874 cas de choléra ont été notifiés en Côte d'Ivoire avec 564 décès. Environ 60 % des cas ont été enregistrés à Abidjan (**Ekra *et al.*, 2009**). En 2002 Abidjan seul a enregistré 3445 cas de choléra, soit 83,88% (**FAO/OMS, 2005**).

Comme le commerce des crustacés est important en Côte d'Ivoire, étant donné l'ignorance de leur qualité sanitaire, il est plus que nécessaire de mieux évaluer le risque que représente leur consommation.

Ainsi, pour répondre à cette préoccupation, cette étude qui s'intègre dans le concept « One Health » et aborde la problématique des zoonoses à l'interface entre l'animal, l'homme et l'environnement avec comme indicateurs *Paragonimus* et *Vibrio* a été entreprise.

La première hypothèse ayant suscité cette étude est celle selon laquelle les deux espèces de crabes, *Liberonautes latidactylus* et *Callinectes marginatus* connues à ce jour en Côte d'Ivoire, ne sont pas les seuls hôtes intermédiaires de *Paragonimus* et que hormis les espèces *Paragonimus africanus* et *Paragonimus uterobilateralis* reconnues comme espèces de *Paragonimus* dans ce pays, d'autres espèces de *Paragonimus* et de trématodes existeraient dans le pays.

La seconde hypothèse est celle selon laquelle les crabes et crevettes vendus à Abidjan seraient contaminés par *Vibrio*, en raison de la présence de ces bactéries dans les eaux côtières et estuariennes dans lesquelles ils sont pêchés.

La troisième hypothèse est basée sur le fait que parmi les patients dits tuberculeux et les enfants d'âge scolaire des zones de pêches de crabes, il existe des cas de paragonimose à cause respectivement de l'insuffisance de diagnostic différentiel entre ces deux maladies pour les premiers et de l'insuffisance de cuisson des crabes sur le lieu de pêche pour les derniers.

Enfin la dernière hypothèse est celle selon laquelle l'endémicité et l'émergence de la paragonimose et des infections à *Vibrio* sont la résultante de facteurs socioculturels.

L'objectif général de cette étude est donc d'évaluer le risque de contraction de la paragonimose et des infections à *Vibrio* lié à la consommation des crustacés vendus sur les marchés.

Les objectifs spécifiques de cette étude sont :

- déterminer les prévalences de contamination des crabes et des crevettes vendus sur les marchés par les espèces de *Vibrio* et de *Paragonimus*;
- caractériser les espèces de *Vibrio* et de *Paragonimus* isolées des crabes et des crevettes vendus sur les marchés;

- déterminer la prévalence de la paragonimose humaine chez les patients des centres antituberculeux et chez les enfants d'âge scolaire;
- déterminer les facteurs de risque de la paragonimose et les potentiels facteurs de risque d'infections à *Vibrio* liés à la consommation des crabes et des crevettes.

La logique de nos travaux s'enchaîne en trois parties, de la manière suivante :

(1) La première partie constitue la revue bibliographique où nous donnons successivement quelques généralités sur les crustacés, sur les principales pathologies liées à la consommation des fruits de mer et sur l'analyse des risques.

(2) La deuxième partie, présente l'ensemble du matériel et des méthodes utilisés pour atteindre les différents objectifs spécifiques

(3) La troisième partie présente les principaux résultats suivis de leur discussion et de leur conclusion partielle.

La conclusion générale, les recommandations et les perspectives de recherche qui se dégagent de ce travail sont abordées après la troisième partie.

PREMIERE PARTIE: REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur les crustacés

1. Reconnaissance et production des crustacés

1.1. Définition et répartition des crustacés

Les crustacés constituent l'une des classes de l'embranchement des arthropodes (insectes, arachnides, myriapodes) qui regroupe les animaux au corps segmenté dont chaque segment est relié aux autres par une membrane articulaire et porte une paire d'appendices. Leur corps est recouvert par une carapace chitineuse sécrétée par l'épiderme et que l'animal renouvelle plusieurs fois au cours de sa croissance (**Pinot, 2003**). Les crustacés décapodes constituent un groupe d'animaux très abondants et diversifiés, puisqu'ils représentent 75-80% de toutes les espèces animales décrites de l'embranchement des arthropodes (**Bodin, 2005**). Ils jouent un rôle important dans la plupart des écosystèmes marins, occupant une grande variété de niches trophiques (**Cartes et al., 2010**). Les crustacés sont quasiment les seuls arthropodes à s'être adaptés à la vie marine (branchies), ils comptent environ 45 000 espèces qui présentent une grande diversité de formes et de modes de vie allant du zooplancton marin jusqu'aux énormes crabes (crabe géant *Macrocheira kaempferi* qui a près de 4 m d'envergure) (**Bodin, 2005**). Les décapodes comptent plus de 10 000 espèces et les crustacés aquatiques font presque tous partie de l'ordre des décapodes. Pour les seuls crabes, l'inventaire mondial de **Ng et al. (2008)** a permis de recenser près de 6 800 espèces et sous-espèces.

1.2. Morphologie externe des crustacés

Les crustacés sont fondamentalement constitués de trois régions :

- la tête qui porte les antennes, 2 paires servant au toucher et à l'odorat (détection mécanique et chimique), des yeux pédonculés et composés comme ceux des insectes, des mandibules qui sont des pièces massives, dentées et broyeuses.
- le thorax qui porte 5 appendices locomoteurs qui contiennent les branchies, 3 appendices masticateurs et des pattes mâchoires qui jouent un rôle alimentaire. Chez certains animaux comme le crabe ou la langouste, la tête et le thorax fusionnent pour former le céphalothorax.
- l'abdomen est articulé et porte des appendices nécessaires à la nage (**Miserey, 2005**).

1.3. Production des crustacés

En 2009, la production mondiale totale de poissons, de crustacés et de mollusques était estimée à 144,6 millions de tonnes et la production aquacole mondiale à 55,7 millions de tonnes pour une valeur de cette production aquacole estimée à 105,3 milliards d'USD à cette même année (FAO, 2011). La crevette est le produit de la mer le plus consommé dans le monde et représente environ 16 % du commerce international, soit 12 milliards de dollars américains (Anonyme 2, 2006 a). Dans les pays en développement, les exportations nettes des produits de la pêche étaient estimées à 25,5 milliards d'USD en 2009 et en 2010 la production totale de poissons, de crustacés et de mollusques était estimée en Côte d'Ivoire à 71 812 tonnes (FAO, 2011).

En Côte d'Ivoire, la pêche artisanale, bien qu'elle soit la plus ancienne, demeure toujours mal connue. Les données la concernant sont soit parcellaires, soit peu fiables (FAO, 2008). La production des lagunes Ebrié, Aby, et Grand-Lahou où se pratique la pêche lagunaire, totalise près de 25 000 tonnes de poisson et de crustacés. Dans le milieu lagunaire deux espèces de crabes sont exploitées : *Callinectes amnicola* avec un tonnage de 7 000 tonnes, principalement pêché dans les lagunes (Grand-Lahou, Ebrié et Aby) et *Cardiosoma armatum*, dont le tonnage avoisine 800 tonnes, est pêché à Grand-Lahou et à Fresco (FAO, 2004). Les crevettes juvéniles appartenant à l'espèce *Penaeus notialis* font partie des ressources lagunaires exploitées et cette exploitation est active à Assinie, à Grand-Lahou et à Dabou (points de jonction mer-lagune) où la crevette, trouve l'écosystème adéquat pour boucler son cycle. Celui-ci comprend une phase de croissance en lagune et une phase de maturité des gonades et d'éclosion en mer (FAO, 2004 ; FAO, 2008).

1.4. Valeur nutritionnelle et composition chimique des crustacés

La teneur en lipides des mollusques et crustacés est égale à celle des poissons maigres (0,5 % à 5 %). Les crustacés ont une teneur en cholestérol supérieure à des valeurs comprises entre 50 mg à 70 mg pour 100 g. En revanche les coquillages (huîtres, moules, palourdes) contiennent des quantités relativement importantes de stérols mais le cholestérol ne représente en fait qu'un tiers de ces stérols. Les coquillages contiennent un peu de glycogène. Les coquillages et crustacés ont la particularité d'être plus riches en divers minéraux (calcium, zinc, fer, sodium) (Desalme *et al.*, 2004). Le tableau I donne la composition chimique et la valeur nutritionnelle de quelques crustacés (homard, crabe, crevette) pour 100 grammes de partie comestible (FAO, 1979).

1.5. Sexe chez les crabes et les crevettes

Il existe un dimorphisme sexuel entre le mâle et la femelle chez les crustacés. Les œufs sont généralement émis directement dans l'eau, ils sont portés par la femelle, suspendus à son abdomen. Le nombre d'œufs portés est en corrélation avec la taille (Miserey, 2005).

Chez les crabes, le mâle dispose d'un abdomen plus étroit et pointu contrairement à celui de la femelle qui est plus large. La figure 1 donne les caractères distinctifs du sexe chez les crabes.

Chez les crevettes, le mâle de certaines espèces possède de grandes pinces asymétriques. L'orifice génital se trouve au niveau de la cinquième paire de péréiopodes. Il présente une pointe ou protubérance au centre du premier somite (segment) abdominal, perceptible au toucher (Rao et Tripathi, 1993).

La femelle possède des pinces de tailles presque identiques et l'orifice génital se trouve au niveau de la troisième paire de péréiopodes.

2. Milieux lagunaires de pêche des crustacés en Côte d'Ivoire

Le système lagunaire ivoirien se compose d'Est en Ouest des quatre lagunes que sont les lagunes Aby, Ébrié, Grand-Lahou et N'Gni de Fresco (Kouassi, 2010). Situées le long du rivage nord du golfe de Guinée, entre 2°50' et 5°25' de longitude ouest, les trois principales lagunes, la lagune Ebrié (566 km²), la lagune Aby (425 km²) et la lagune de Grand-Lahou (210 km²) où se pratique la pêche lagunaire, ont une superficie totale de 1.200 km². Les trois principaux canaux joignant ces différentes lagunes sont : le canal d'Azagny, long de 17 km et reliant les lagunes de Grand-Lahou et Ebrié, le canal de Groguida, qui connecte deux branches de la lagune de Grand-Lahou avec une longueur de 1 km et le canal d'Assinie qui lie la lagune Ebrié à celle d'Aby avec une longueur de 48 km (FAO, 2004).

La lagune Ebrié constitue l'étendue saumâtre tropicale la plus vaste de l'Afrique Occidentale communiquant avec l'Océan Atlantique par le canal de Vridi construit en 1950 et elle reçoit de l'eau douce par le fleuve Comoé et par les rivières Agnéby et Mé (Albaret et Laë, 2003). Assez longue (120 km), elle est peu profonde (4,5 m en moyenne), la salinité est proche de zéro aux extrémités ouest et est, la température oscille entre 25 et 32°C et elle est bordée par les villes d'Abidjan, de Grand-Bassam, de Bingerville et de Dabou (Pages *et al.*, 1980).

En lagune Ebrié, plusieurs études se sont focalisées sur la contamination chimique des échantillons de poissons, d'arche (*Arca senilis*), d'huîtres (*Crassostrea gasar*), de crabes (*Callinectes amnicola*) (Métongo et Gbocho, 2007) et ont révélé que les échantillons provenant des zones urbaines sont plus contaminés que ceux des secteurs ruraux. Une étude menée par Mamadou *et al.* (2008) a révélé que les teneurs en plomb du gastéropode *Tympanotonus fuscatus radula* dépassent largement les normes de consommation des produits de l'Union Européenne et de l'OMS. Entre 1985 et 1990, de nombreuses infections à vibrionacées ont périodiquement été signalées dans les zones habitées qui bordent la lagune (Kouassi *et al.*, 1992). L'analyse des données microbiologiques de la lagune Ebrié donne des valeurs moyennes annuelles en streptocoques dépassant les normes OMS de qualité des eaux de surface à usage récréatif (OMS, 2003).

3. Crabes et crevettes pêchés en Côte d'Ivoire

En lagune Ebrié, les crustacés sont principalement représentés par des espèces appartenant à trois familles de l'ordre des décapodes (Lhomme, 1994) :

- les Palaemonidae (crevettes du genre *Macrobrachium*)
- les Penaeidae (crevettes du genre *Penaeus*)
- les Portunidae (crabes du genre *Callinectes* avec les espèces *Callinectes amnicola* et *Callinectes pallidus* qui sont les plus abondantes).

3.1. Crabes du genre *Callinectes* et leurs différences morphologiques

Une révision de la systématique des brachyours d'Afrique de l'Ouest a été publiée par Manning et Holthuis (1981). Sur les trois espèces présentes sur les côtes ouest-africaines depuis la Mauritanie jusqu'à l'Angola, *C. amnicola*, *C. pallidus* et *C. marginatus*, seules les deux premières sont beaucoup rencontrées en Côte d'Ivoire. La figure 2 donne les termes techniques des crabes *Callinectes* sp.

3.1.1. *Callinectes amnicola*

L'espèce de crabe *Callinectes amnicola*, dont la largeur de la carapace est deux fois ou légèrement plus que sa longueur (Fischer *et al.*, 1981), joue un rôle biologique essentiel dans l'écosystème de la lagune Ebrié. En effet, son régime alimentaire omnivore en fait un maillon important dans l'écosystème en particulier entre la production benthique et les niveaux supérieurs de la chaîne alimentaire (Charles-Dominique et Hem, 1981). Cette

espèce de crabe dont la longueur maximum de la carapace est 7,5 cm et la largeur 15,5 cm (**Fischer et al., 1981**) a une grande importance économique par sa valeur marchande et par ses prises en Côte d'Ivoire. On la retrouve au niveau des fonds vaseux dans les zones de mangrove et des embouchures de rivières (**Defelice et al., 2001**). Elle est souvent pêchée dans les lagunes Ouest-Africaines qui constituent l'exutoire normal des déchets d'origines diverses. Elle est très appréciée par les populations sub-sahéliennes du Sénégal en Angola (**Charles-Dominique et Hem, 1981 ; Lawal-Are et Kusmiju, 2000**). **Manning et Holthuis (1981)** indiquent dans leurs travaux sur les crabes du genre *Callinectes* que *C. amnicola* est une espèce de crabe d'eaux saumâtres oligohalines (salinité 0,5 à 5 g/L) et même d'eaux douces. La figure 3 montre un crabe *C. amnicola*.

Le cycle biologique de *C. amnicola* se déroule essentiellement en lagune. Cependant les femelles ovigères peuvent être observées en mer au large de Grand Bassam, au sud d'Abidjan où elles sont soumises à la flore marine et cette migration serait liée à la ponte (**Charles-Dominique et Hem, 1981**). La reproduction de *C. amnicola* en lagune Ébrié est caractérisée par la migration des femelles des zones dessalées situées à l'ouest de Dabou (au sud-ouest de la Côte d'Ivoire à 49 km d'Abidjan), vers les secteurs méso- et euhalins proches du canal de Vridi, au sud d'Abidjan. Cette migration s'accompagne d'une maturation des gonades. Les mâles, contrairement à ceux des deux autres espèces (*C. pallidus* et *C. marginatus*) ont les gonopodes plus longs, sont beaucoup plus sédentaires et se trouvent dans les eaux oligohalines, parfois dans les eaux douces (**Lhomme, 1994**). Une étude réalisée au Nigéria a montré que chez cette espèce de crabe, la fécondité et la masse sont fortement plus corrélées que la fécondité et la taille (**Arimoro et Idoro, 2007**).

Tableau I: Composition chimique et valeur nutritionnelle des crustacés pour 100 grammes de partie comestible (FAO, 1979).

Constituants	Valeur
Eau (mL)	77
Energie (calories)	94
Protéines (g)	18
Lipides (g)	1,5
Glucides (g)	1,5
Cellulose (g)	2
Calcium (mg)	100
Fer (mg)	5
Thiamine (mg)	0,05
Riboflavine (mg)	0,10
Niacine (mg)	2,50
Déchet ($^{0}/_{0}$) de l'aliment tel qu'acheté	63

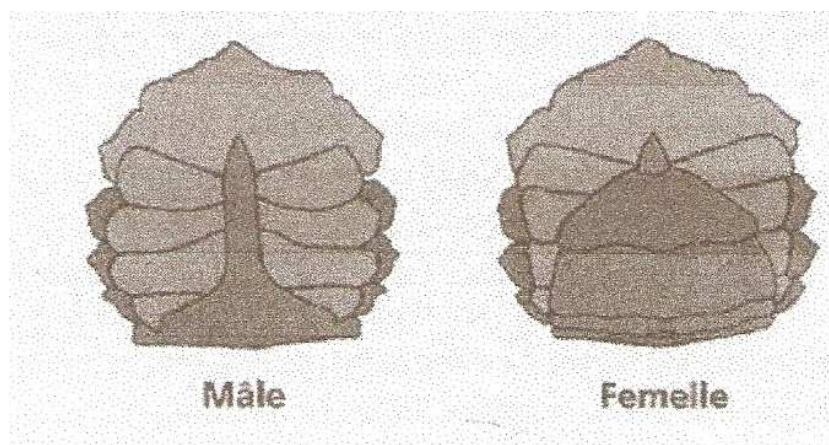


Figure 1 : Caractères distinctifs du sexe chez les crabes au niveau de leur abdomen

Source : Miserey, 2005

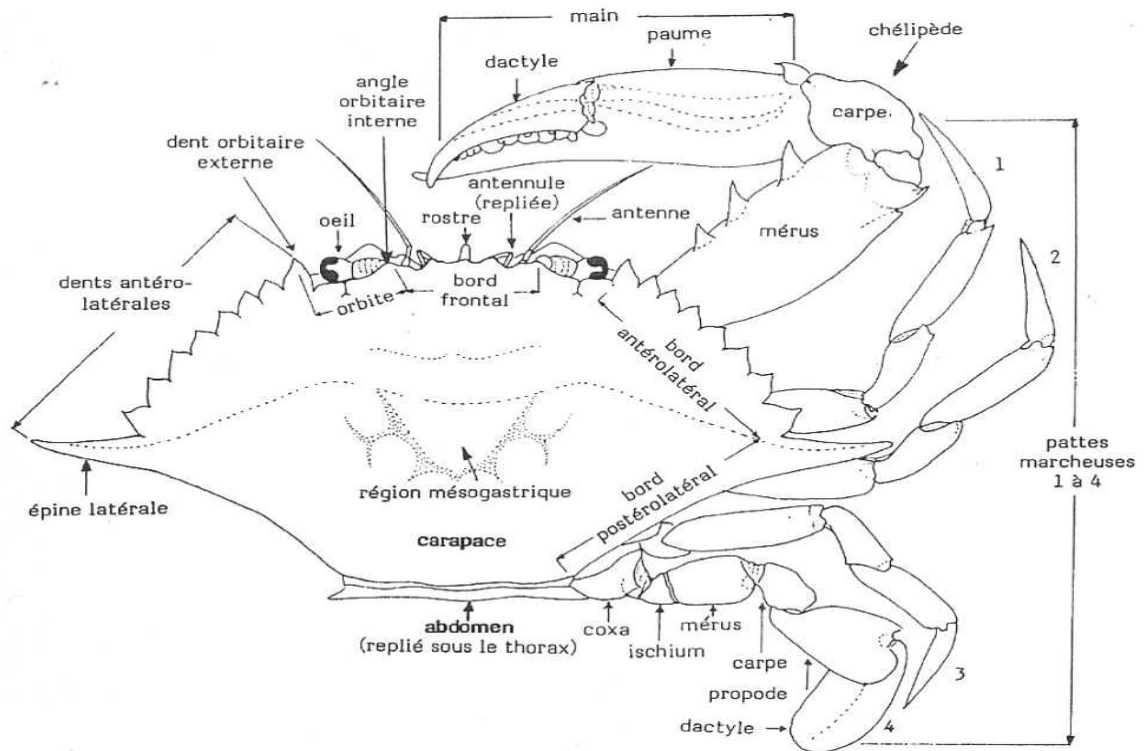


Figure 2 : Anatomie de *Callinectes* sp.

Source : Fischer *et al.*, 1981

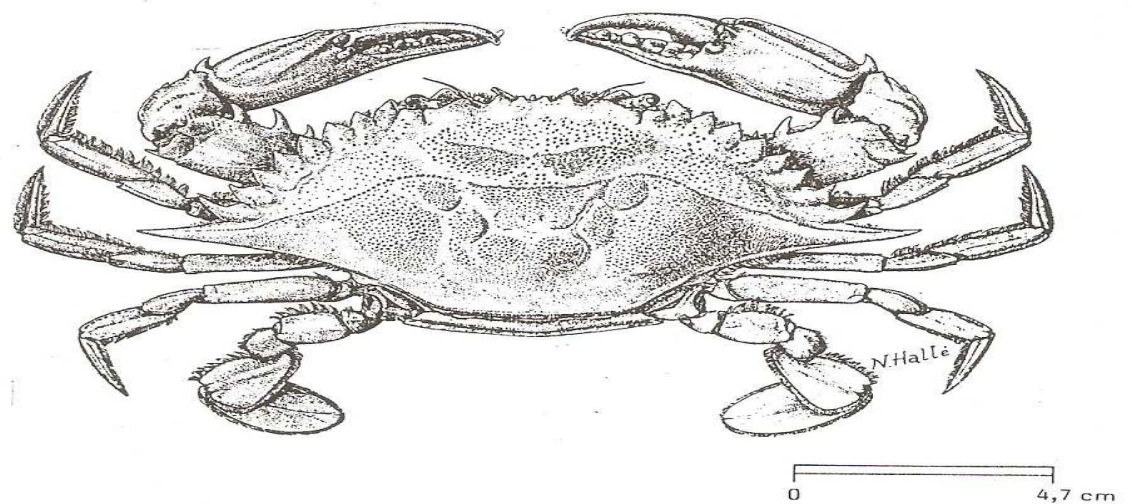


Figure 3 : *Callinectes amnicola*

Source : Fischer *et al.*, 1981

3.1.2. *Callinectes pallidus*

Ce crabe, à la différence des deux autres espèces, a la carapace très large, presque 2,5 fois plus large que longue et plus plate avec l'épine latérale la plus longue (environ trois fois plus longue que la dent précédente). La surface de la carapace est uniformément garnie de granules fins. La largeur maximum de la carapace est de 10,9 cm et la longueur 4,5 cm (**Fischer et al., 1981**). Le cycle biologique de *C. pallidus* se déroule en mer et en lagune (**Lhomme, 1994**). La figure 4 montre un crabe *C. pallidus*.

3.1.3. *Callinectes marginatus*

A la différence de *C. amnicola* qui a une carapace plus convexe avec des granulations plus grossières et une crête granuleuse pratiquement droite sans inflexion s'étendant vers l'intérieur depuis l'épine latérale, la carapace du crabe *Callinectes marginatus* est légèrement plus plate et la granulation plus fine. La crête s'étendant de l'épine latérale vers le centre a une nette inflexion près de son milieu. La largeur de la carapace est un peu plus de deux fois sa longueur et la largeur maximum de la carapace est de 9,7 cm (**Fischer et al., 1981**). La figure 5 montre un *C. marginatus*.

3.2. Crabe *Cardisoma armatum*

L'espèce *Cardisoma armatum*, généralement appelée "Crabe poilu" par les populations lagunaires, est un décapode terrestre omnivore vivant dans les milieux margino-littoraux de l'Afrique de l'Ouest et se nourrissant principalement de fruits (avocats, bananes, graines de palme...), de végétaux (épinards, feuilles de palétuvier, salades...) et d'algues. (**Le Loeuff et Zabi, 1993**). A la différence des crabes appartenant au genre *Callinectes*, les crabes *Cardisoma armatum* ont une carapace en forme de pomme et lisse, sans dents antéro-latéraux (**Akin-Oriola et al., 2005**). La figure 6 montre un crabe *C. armatum*.

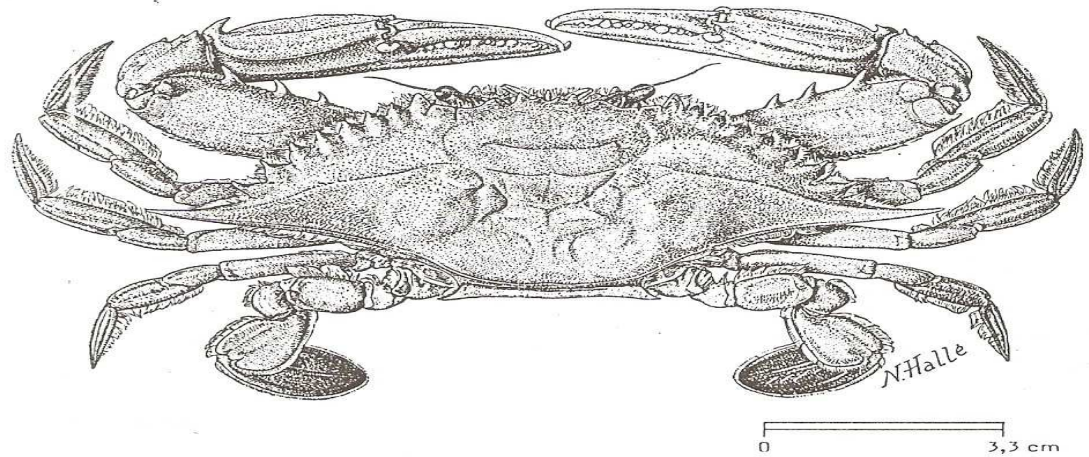


Figure 4 : *Callinectes pallidus*

Source : Fischer *et al.*, 1981

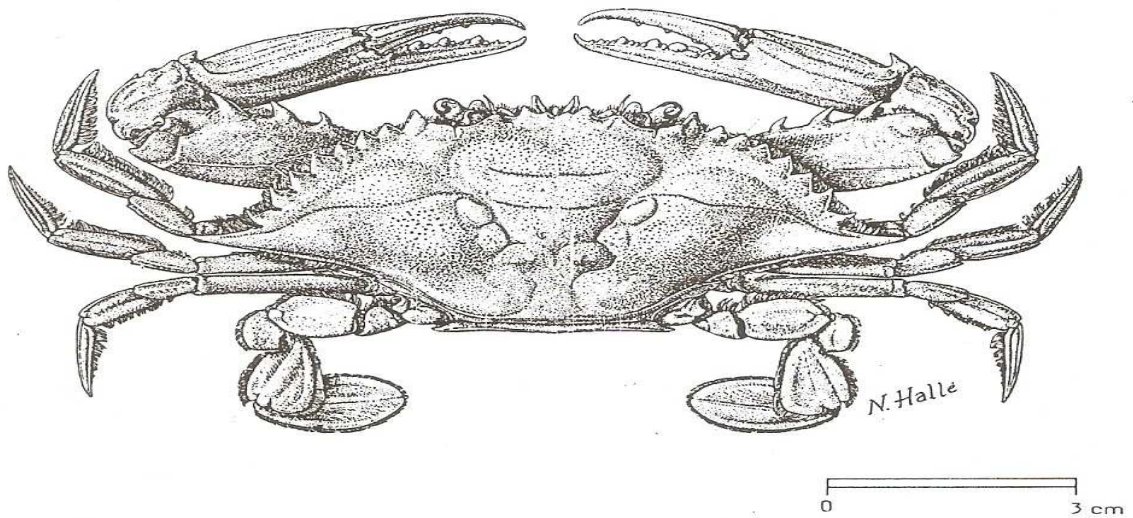


Figure 5 : *Callinectes marginatus*

Source : Fischer *et al.*, 1981

3.3. Crevettes du genre *Penaeus* et leurs différences morphologiques

Les crevettes *Penaeus* sont des arthropodes, des malacostracés qui font partie de l'ordre des décapodes (Doquin, 2004). Une révision systématique des crevettes commercialisables a été effectuée par Holthuis en 1980. En Côte-d'Ivoire, la seule espèce importante sur le plan économique est *Penaeus notialis* (FAO, 2004).

La caractéristique essentielle du cycle des crevettes pénéides est son caractère mixte : adultes et larves se rencontrent dans le milieu marin, post-larves et juvéniles dans les milieux saumâtres lagunaires et estuariens. La figure 7 donne les termes techniques des crevettes en général.

3.3.1. *Penaeus notialis*

Penaeus (Farfantepenaeus) notialis a un rostre muni généralement de 9 dents sur le bord dorsal et deux dents sur le bord ventral. Le dernier (sixième) segment abdominal porte un sillon dorso-latéral bien défini de chaque côté de la carène dorsale. La longueur totale maximum est de 23 cm chez les femelles et 17 cm chez les mâles (Fischer et al., 1981). La figure 8 montre une crevette *P. notialis*.

3.3.2. *Penaeus kerathurus*

Penaeus (Melicertus) kerathurus, contrairement à l'espèce *Penaeus (Farfantepenaeus) notialis* a un rostre légèrement recourbé vers le haut à l'extrémité, avec généralement 11 dents sur le bord dorsal et une seule forte dent sur le bord ventral. Le dernier (sixième) segment abdominal ne porte aucun sillon dorso-latéral de chaque côté de la carène dorsale. La longueur totale maximum est de 23,5 cm chez les femelles et 18 cm chez les mâles (Fischer et al., 1981). La figure 9 montre une crevette *P. kerathurus*.

3.4. Crevettes du genre *Macrobrachium* et leurs différences morphologiques

Le genre *Macrobrachium* comprend plus de 200 espèces (Short, 2004). En Côte-d'Ivoire, sept espèces sont rencontrées : *M. chevalieri*, *M. dux*, *M. felicinum*, *M. macrobrachion*, *M. raridens*, *M. thysi* et *M. vollenhovenii* (Lévêque et al., 1983). Parmi ces sept espèces, deux de taille importante sont plus rencontrées dans les cours d'eau en Côte d'Ivoire: *M. macrobrachion* et *M. vollenhovenii* (N'zi et al., 2008).

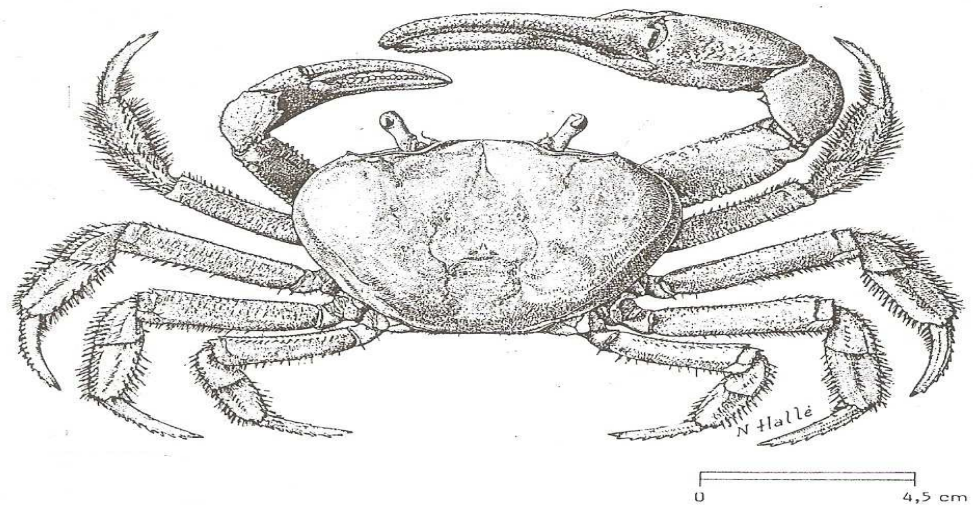


Figure 6: *Cardisoma armatum*

Source : Fischer *et al.*, 1981

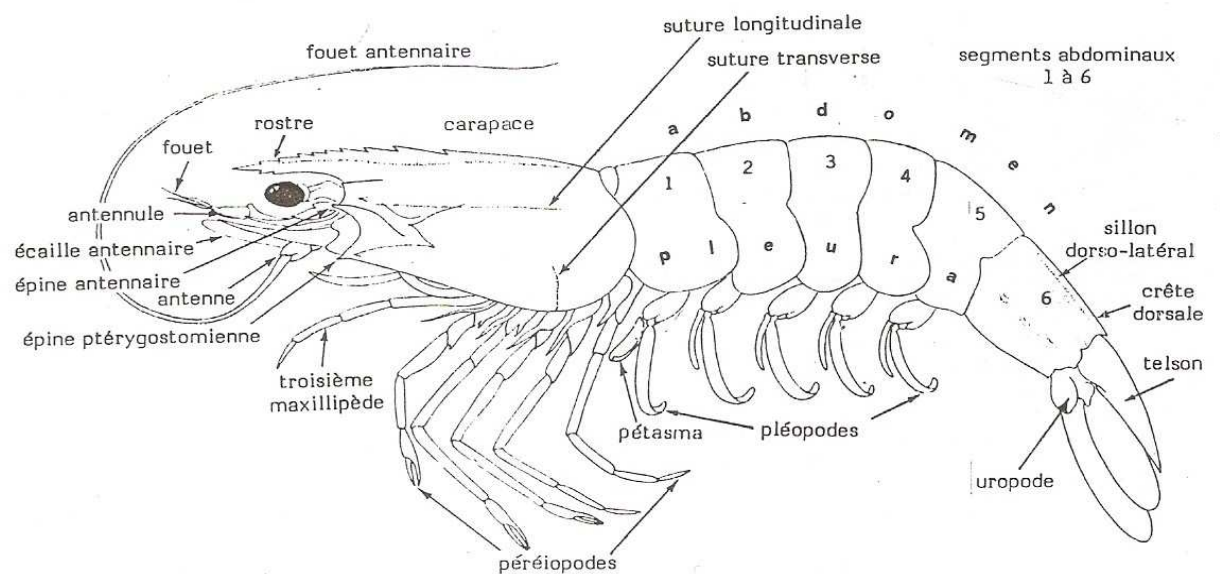


Figure 7: Anatomie des crevettes

Source : Fischer *et al.*, 1981

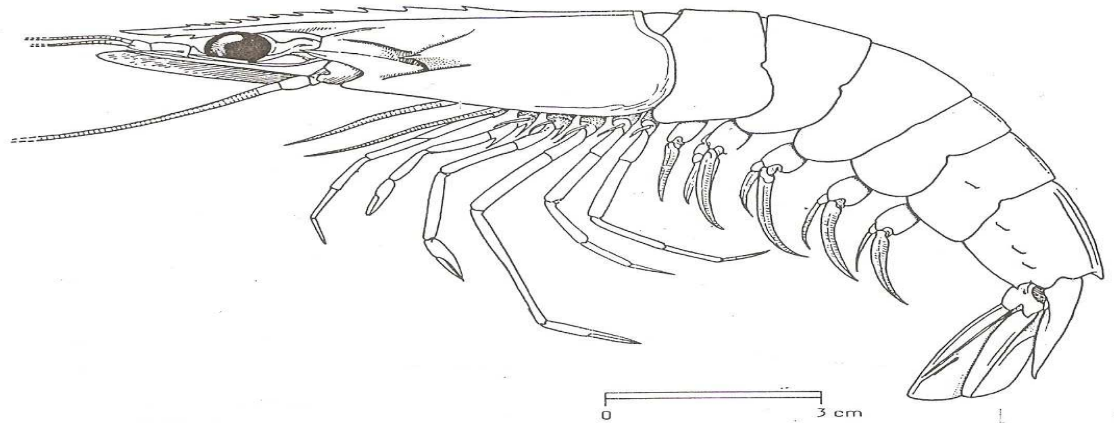


Figure 8 : *Penaeus notialis*

Source : Fischer *et al.*, 1981

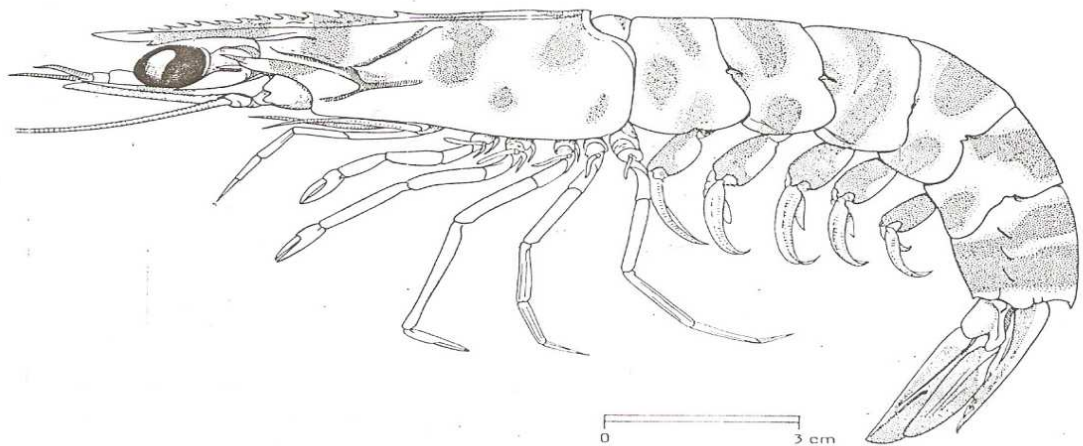


Figure 9: *Penaeus kerathurus*

Source: Fischer *et al.*, 1981

3.4.1. *Macrobrachium vollenhovenii*

Les connaissances sur les *Macrobrachium* sont parcellaires et essentiellement basées sur les travaux déjà anciens de **Ville (J.P)** parus en 1970 et 1972, avec un accent mis sur *M. vollenhovenii*, espèce apparemment la plus commune. Les individus appartenant à l'espèce *Macrobrachium vollenhovenii* ont la longueur du carpe inférieure ou égale à celle du mérus. Cette espèce est de grande taille, les pattes de la deuxième paire sont grandes et larges. La pointe du rostre est inférieure à l'extrémité antérieure de l'écaille antennaire. La figure 10 montre une crevette *M. vollenhovenii*.

3.4.2. *Macrobrachium macrobrachion*

Chez *Macrobrachium macrobrachion*, la longueur du carpe est égale à celle du mérus. C'est une espèce de taille moyenne, les pattes sont plus ou moins identiques, moyennes et moins larges. La pointe du rostre est légèrement supérieure ou égale à l'extrémité antérieure de l'écaille antennaire. Si la détermination de ces deux espèces de crevettes appartenant au genre *Macrobrachium* est relativement aisée chez les mâles adultes (à partir de caractères morphologiques de la deuxième paire de pattes, surtout par la forme des pinces), il n'en est pas de même chez les formes juvéniles et les femelles adultes dont l'identification est délicate (**Konan et al., 2008**). La figure 11 montre une crevette *M. macrobrachion*.

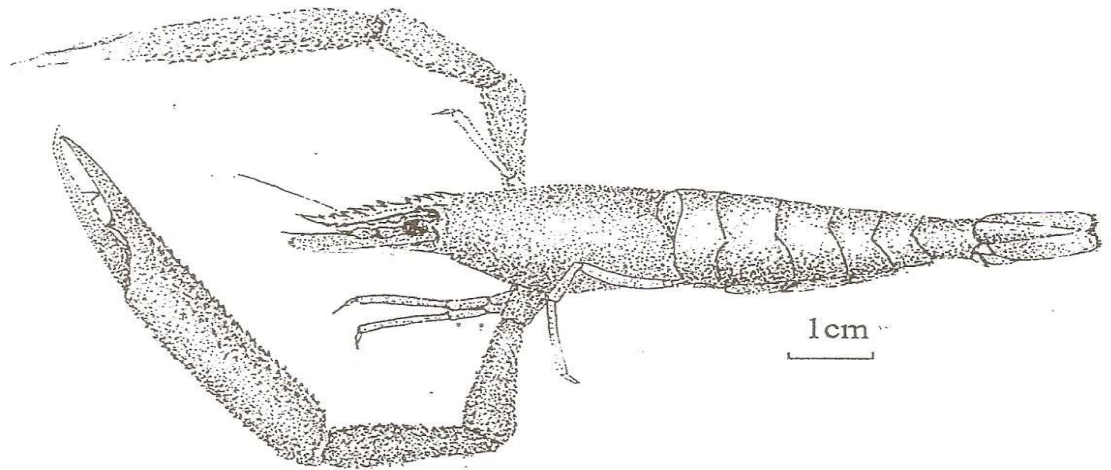


Figure 10: *Macrobrachium vollenhovenii*

Source : Fischer *et al.*, 1981

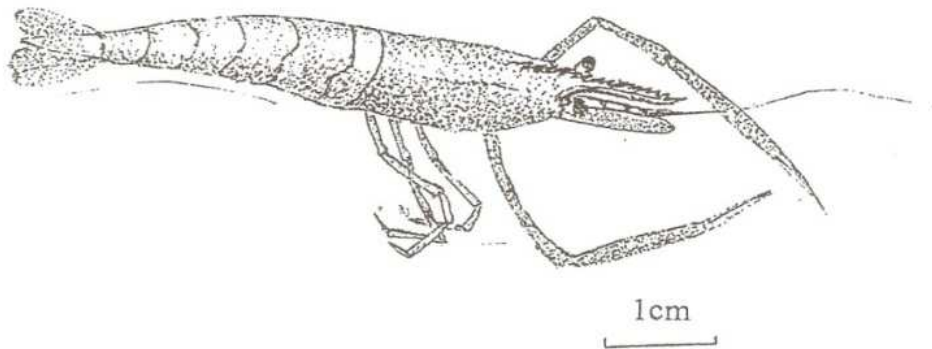


Figure 11: *Macrobrachium macrobrachion*

Source : Fischer *et al.*, 1981

II. Généralités sur les pathologies dues à la consommation des fruits de mer

Divers facteurs liés à la production des fruits de mer et à leur environnement marin expliquent le rapport entre leur consommation et l'apparition de certaines pathologies. D'une part, les fruits de mer sont consommés crus ou insuffisamment cuits (OMS/FAO, 2004), d'autre part, ils proviennent d'eaux souvent polluées (Festy *et al.*, 2003) et la composition de leur microflore dépend de la flore de ces eaux, de la flore de recontamination pendant les différentes étapes de leur procédé de transformation et des facteurs environnementaux qui vont permettre la croissance bactérienne (Leroi, 2009).

Il existe plus de 200 maladies infectieuses bactériennes, virales ou toxiques transmises par l'alimentation (Rastoin, 2007). Cependant, les principales maladies dues à la consommation de fruits de mer pollués sont les fièvres typhoïdes et paratyphoïdes, les salmonelloses, l'infection à *Vibrio parahaemolyticus*, l'hépatite virale de type A, l'intoxication paralysante par les fruits de mer, les intoxications chimiques, le choléra et les trématodoses alimentaires dont la paragonimose (OMS, 1977).

Dans la suite de ce chapitre, nous nous limiterons essentiellement à la paragonimose humaine, au choléra et aux infections à *Vibrio* non cholériques qui font l'objet de notre étude.

1. Choléra et infections à vibrions non cholériques

Le choléra est une infection intestinale aiguë causée par l'ingestion de nourriture ou d'eau contaminées par *Vibrio cholerae* O1 et O139 toxigène (Reidl et Klose, 2002). Le choléra est une maladie importante sur le plan mondial qui affecte le plus, les pauvres et s'étend progressivement vers des régions auparavant épargnées (Harris *et al.*, 2010). Depuis le début des années 90, une augmentation spectaculaire des cas de choléra a été observée au niveau mondial avec le changement climatique, la pauvreté et la mobilité des personnes (Jutla *et al.*, 2011 ; Mutreja *et al.*, 2011). L'Organisation mondiale de la Santé (OMS) estime entre 3 et 5 millions par an, les cas de choléra dans le monde (OMS, 2011 a), et en 2010, des cas de choléra ont été signalés dans 48 pays (OMS, 2011 b).

Entre 2001 et 2009, 93 à 98% de tous les cas de choléra signalés provenaient d'Afrique et en 2010, 56% de tous les cas ont été rencontrés à Haïti (OMS, 2011 b). En Côte d'Ivoire, le choléra sévit à l'état endémo-épidémique depuis trois décennies et l'agent responsable de cette maladie est *V. cholerae* O1 (Tiékoura *et al.*, 2010).

L'incidence des infections à vibrions non cholériques est difficile à connaître, en particulier pour les formes les moins sévères. En effet, les cas de vibrioses non cholériques

n'étant pas à déclaration obligatoire, les souches ne sont envoyées au Centre National de Référence que par les laboratoires ayant des problèmes d'identification au niveau de l'espèce, ou souhaitant une confirmation de leur identification.

Cependant, un bilan de la morbidité et de la mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France, publié en 2004 par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) en collaboration avec l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (AFSSA), conclut que, même si l'exhaustivité du Centre National de Référence des Vibrions et du Choléra (CNRVC) n'est pas connue, sa représentativité semble bonne pour les cas graves d'hospitalisation dans la grande majorité des infections à vibrions non cholériques.

Cette étude souligne par ailleurs qu'il est possible que le nombre de cas confirmés ne représente qu'une petite partie du nombre de cas réels en raison d'un sous-diagnostic important, en particulier pour les formes bénignes, du fait que la mise en évidence de *Vibrio* dans les selles nécessite l'emploi d'un milieu de culture sélectif, le milieu TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose) qui n'est pas utilisé en routine dans les laboratoires de microbiologie clinique. Les cas de gastro-entérites liés à ces vibrions étant probablement sous-diagnostiqués, la fréquence de ces infections est donc sous-estimée et le recensement non exhaustif (Quilici *et al.*, 2005).

Les infections humaines à vibrions non cholériques (VNC) surviennent principalement en saison chaude. Elles sont dues à la consommation de fruits de mer et se manifestent alors sous forme de gastro-entérites et de septicémies (Cohen *et al.*, 2007). La pathogénicité chez l'homme dépend de la souche infectante et de l'état initial du sujet contaminé. Toute personne est susceptible de développer une gastro-entérite à *Vibrio* après ingestion de produits contaminés à dose suffisante (Cohen *et al.*, 2007). L'expression clinique et la gravité des infections à vibrions non cholériques sont liées le plus souvent à des pathologies sous-jacentes dont les plus fréquentes sont les cancers, l'immunodépression, le diabète, les hépatopathies et les antécédents de chirurgie digestive (Vaillant *et al.*, 2004).

1.1. Bactéries du choléra et des infections à vibrions non cholériques

Le choléra et les infections à vibrions non cholériques sont dus à des bactéries appartenant au genre *Vibrio*, lequel genre fut défini initialement par Véron en 1965. Le premier agent décrit dans ce genre est *Vibrio cholerae* qui fut initialement observé par l'anatomiste italien Filippo Pacini en 1854 à Florence (sur des cadavres de patients morts du choléra) et isolé en 1883 par Robert Koch en Inde. Le genre *Vibrio* appartient à la famille

des Vibrionaceae laquelle a été restreinte à ce seul genre sur la base des travaux effectués en 2004 par Thompson et ses collaborateurs sur le séquençage des ARNr 16 S (Thompson *et al.*, 2004). En 2005, les travaux effectués par Thompson et ses collaborateurs sur l'analyse de séquences génomiques multiples ont permis de distinguer plusieurs groupes de souches au sein du genre *Vibrio* laissant entrevoir une évolution de la taxonomie des vibrions dans les prochaines années (Thompson *et al.*, 2005).

Les *Vibrio* sont des bacilles à Gram négatif, droits ou incurvés, d'un diamètre compris entre 0,5 et 0,8 μm et d'une longueur comprise entre 1,4 et 2,6 μm (Cohen et Karib, 2007). Ils présentent une mobilité polaire due à un seul flagelle. Ils sont aéro-anaérobies facultatifs. Toutes les espèces de *Vibrio*, à l'exception de *V. metschnikovii* et de *V. gazogenes*, sont positives pour le test de l'oxydase. La plupart des espèces fermentent le glucose, sans production de gaz. A l'exception des espèces *V. cholerae* et *V. mimicus* qui sont halotolérantes, les espèces de *Vibrio* sont halophiles et requièrent du sodium pour leur croissance (Cohen et Karib, 2007). En effet, les besoins en NaCl dans le milieu varient selon les espèces (5-15 mM pour *V. cholerae*, 140-260 mM pour *V. vulnificus* et *V. parahaemolyticus*) (China *et al.*, 2003). Les *Vibrio* se développent abondamment en milieux peptonés simples et généralement sur le milieu "marine agar" et sur la gélose Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose (TCBS) (Cohen et Karib, 2007).

La densité des espèces de *Vibrio* dans l'environnement marin évolue en fonction de divers facteurs climatiques et environnementaux, tels que la température de surface de l'eau, la salinité, la turbidité, le pH et la présence de chlorophylle A (Quilici et Robert-Pillot, 2011). La tolérance des vibrions à la température varie d'une espèce à l'autre, mais les plus hautes densités de vibrions sont retrouvées dans des eaux à des températures comprises entre 20 °C et 30 °C (Tantillo *et al.*, 2004). A des basses températures, les vibrions survivent dans les sédiments sans être cultivables mais lorsque la température augmente au-delà de 15-20 °C, ces bactéries se multiplient et sont décelables dans l'eau et dans les produits de mer (mollusques, poissons, crustacés) (Strom et Paranjpye, 2000). La distribution des espèces de *Vibrio* est influencée par la salinité qui peut être perturbée par la fréquence des pluies, des tempêtes et des ouragans induits par le changement climatique (Donnelly et Woodruff, 2007). Dans l'eau de mer, les variations d'abondance des *Vibrio* s'expliquent par la salinité et la concentration en matières organiques, alors que dans les sédiments, la température de surface de l'eau est le seul facteur qui affecte de manière significative leur abondance (Vezzulli *et al.*, 2009).

Le nombre d'espèces décrites ne cesse de croître passant de 20 espèces identifiées en 2002, à 90 espèces en 2011 (Quilici et Robert-Pillot, 2011). La plupart des espèces de *Vibrio* ne sont pas pathogènes pour l'homme et l'on considère qu'elles fournissent un large réservoir de gènes virulents connus. La mobilité des gènes de virulence et leur capacité de transfert permet la transformation de souches non pathogènes en souches pathogènes (Faruque et Nair 2002).

Sur les 90 espèces que comprend le genre *Vibrio*, 12 sont considérées comme pathogènes pour l'homme. Les quatre espèces les plus fréquemment isolées dans les laboratoires de microbiologie clinique sont *V. cholerae* non-O1/non-O139, *V. parahaemolyticus*, *V. vulnificus* et *V. alginolyticus* (Quilici et Robert-Pillot, 2011). Trois autres espèces sont rarement isolées : *V. fluvialis*, *V. hollisae* et *V. mimicus*. Le caractère pathogène des cinq autres espèces, *V. carchariae*, *V. cincinnatiensis*, *V. damsela*, *V. furnissii* et *V. metschnikovii*, n'est pas clairement établi (Fournier et Quilici, 2002). Cependant, les principales espèces pathogènes associées aux fruits de mer sont : *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae* et *V. vulnificus* (China et al., 2003). Les espèces de *Vibrio* pathogènes pour l'homme sont résumées dans le tableau II.

Tableau II: Espèces de *Vibrio* potentiellement pathogènes pour l'homme (Quilici et Robert-Pillot, 2011).

Espèces fréquemment isolées	- <i>Vibrio cholerae</i> - <i>Vibrio parahaemolyticus</i> - <i>Vibrio vulnificus</i> - <i>Vibrio alginolyticus</i>
Espèces rarement isolées	- <i>Vibrio fluvialis</i> - <i>Vibrio hollisae</i> - <i>Vibrio mimicus</i>
Espèces à pathogénicité douteuse	- <i>Vibrio carchariae</i> - <i>Vibrio cincinnatiensis</i> - <i>Vibrio damsela</i> - <i>Vibrio furnissii</i> - <i>Vibrio metschnikovii</i>

Le génome des espèces de *Vibrio* est constitué de deux chromosomes circulaires dont celui de plus grande taille (environ 3 mégabases) porte la plupart des gènes

indispensables à la croissance bactérienne et à l'expression du pouvoir pathogène et l'autre de petite taille (de 1,1 à 1,9 mégabases) porte des gènes permettant aux bactéries de s'adapter au milieu extérieur (**Quilici et Robert-Pillot, 2011**). On distingue les “vibrions cholériques”, qui comprennent les souches appartenant aux sérogroupes O1 et O139 de l'espèce *V. cholerae*, et les “vibrions non cholériques” qui comprennent d'une part, les souches de *V. cholerae* des sérogroupes autres que O1 et O139 (plus de 200 sérogroupes décrits) appelées *V. cholerae* non-O1/non-O139, et d'autre part, les souches des autres espèces du genre *Vibrio* (**Cohen et al., 2007**).

Les vibrions sont facilement détruits par la chaleur. Une cuisson suffisamment prolongée suffit à éliminer la plupart des vibrions. Toutefois, **Blake et al. (1980)** ont constaté que des *V. cholerae* O1 survivaient jusqu'à 8 min à l'ébullition et jusqu'à 25 min à l'étuvage dans des crabes naturellement contaminés. Aussi, une étude menée dans des restaurants de la Nouvelle-Orléans aux États-Unis a-t-elle permis de retrouver *V. parahaemolyticus* dans 50 % des échantillons d'huîtres cuites, 67 % des échantillons de crevettes bouillies et 33 % des échantillons de salades de crabe (**FDA, 2005**). En effet, la vitesse avec laquelle les micro-organismes sont tués par la chaleur dépend de la température, de l'humidité, du type de micro-organismes et du milieu dans lequel se trouvent ces derniers pendant le traitement thermique. Si les micro-organismes sont piégés dans des tartres ou autres substances, ils sont protégés et par conséquent la chaleur, même élevée, risque d'être inefficace pour les tuer. Il importe de se rappeler la cinétique de l'inactivation des micro-organismes par la chaleur :

$$\text{Log } C_t = \log C - K \times t$$

Formule (1)

Où :

C est la population originelle de micro-organismes vivants (numération initiale des organismes viables)

C_t est le nombre total des survivants au bout du temps t.

K, le taux de létalité, est une constante (pente de la droite) qui dépend du micro-organisme dont il s'agit et des conditions d'expérience.

Le nombre des micro-organismes survivants au temps “t” est fonction du niveau d'infection initiale, ainsi que de la constante taux de mortalité et du temps de chauffage (**Huss, 1996**).

1.2. Pouvoir pathogène et toxigène des bactéries impliquées dans le choléra et les infections à vibrions non cholériques

1.2.1. *V. cholerae* O1 et O139

Les souches de *V. cholerae* O1 et O139 toxigènes isolées chez l'homme sont responsables d'épidémies de choléra. L'ingestion de 10^8 à 10^{11} bactéries en solution aqueuse est nécessaire, chez un individu sain, pour provoquer la maladie. L'inoculum peut être moins important, de 10^3 à 10^6 germes, si l'acidité gastrique est faible, notamment en cas de malnutrition, ou si les vibrions sont absorbés avec des aliments qui les protègent de l'acidité gastrique (**Kaur et Ganguly, 2003**). Après passage dans l'estomac, les vibrions qui ont survécu se multiplient dans la lumière de l'intestin grêle et adhèrent à l'épithélium. Ils sécrètent la toxine cholérique (CT) qui est une entérotoxine responsable d'une importante diarrhée liquide qui peut entraîner la mort (**Reidl et Klose, 2002**).

Les vibrions cholériques produisent, comme principaux facteurs de pathogénicité, la toxine cholérique (CT) et le facteur d'adhésion TCP (Toxin-Coregulated Pilus). La toxine cholérique CT est une exotoxine codée par le phage filamenteux CTX Φ , intégré au chromosome I de *V. cholerae* (**Lencer et Tsai, 2003**). On distingue deux parties dans CTX Φ (**Faruque et Mekalanos, 2003**): la région RS2 (codant pour des protéines impliquées dans l'intégration, la réplication et la régulation de CTX Φ) et la partie centrale ou core, qui porte les gènes *ctxA* et *ctxB*, ainsi que d'autres gènes codant notamment pour des protéines structurales du phage. L'expression du phage CTX Φ est induite par l'ensoleillement et sa stabilité dépend de la température (moins de 37 °C), de la salinité (au-delà de 0,5 %) et du pH (intervalle de 5 à 10) (**Faruque et al., 2000**).

Le TCP est un facteur de virulence clé dans le processus infectieux de *V. cholerae*. Le TCP est un pilus de type IV, indispensable à la colonisation du tractus intestinal de l'homme (**Herrington et al., 1988**) et est le récepteur au bactériophage filamenteux CTX Φ , codant pour la toxine cholérique chez *V. cholerae* (**Heidelberg et al., 2000**). La biosynthèse du TCP requiert l'activité de quinze gènes regroupés dans l'opéron TCP, localisés sur le chromosome I. Cet opéron fait partie intégrante d'un îlot de pathogénicité appelé VPI (39,5 kpb) caractéristique des souches de *V. cholerae* à l'origine d'épidémies et de pandémies. L'acquisition du facteur TCP et de la toxine CT est séquentielle: d'abord la bactérie *V. cholerae* isolée acquiert le facteur TCP et puis elle acquiert la toxine CT par l'intermédiaire de CTX Φ (**Waldor et Mekalanos, 1996**).

Le pouvoir pathogène des vibrions cholériques est lié à la présence des gènes *ctxA* et *ctxB* qui codent pour les sous-unités A et B de la toxine cholérique. Outre ces gènes *ctxA*

et *ctxB*, les gènes *zot* et *ace* sont également impliqués dans le pouvoir pathogène, en codant pour des protéines qui agissent en augmentant la perméabilité de la muqueuse intestinale. Les gènes *zot* et *ace* sont encadrés de séquences RS1 codant pour un élément transposable porté par un prophage (Faruque et Nair, 2002 ; Sack *et al.*, 2004). La régulation de la virulence implique de multiples systèmes dont le plus important est le régulon *toxR* : la protéine ToxR se fixe en amont des gènes *ctxAB* pour augmenter leur transcription et contrôle l'expression d'au moins 17 autres gènes, en fonction de stimuli environnementaux (température, pH, osmolarité). De plus, le gène *toxR* active l'expression des gènes *tcp* essentiels pour l'adhésion de *V. cholerae* aux entérocytes (Reidl et Klose, 2002).

1.2.2. *Vibrio cholerae* non O1 et non O139

A la différence de ce qui se passe pour le choléra, il n'y a pas de transmission interhumaine des infections à *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139. Les souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139 ont pour réservoir l'environnement hydrique. A la suite d'un contact de l'homme avec les eaux côtières ou estuariennes ou après ingestion de produits de mer, les souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139 sont responsables d'infections cutanées et d'infections par voie digestive, lors de toxi-infections alimentaires isolées ou collectives (Feldhusen, 2000).

Des facteurs de virulence ont été associés aux infections à *Vibrio cholerae* non-O1/non-O139 dont le pouvoir pathogène s'exprime par des mécanismes clairement distincts de ceux des vibrions cholériques. Il a été décrit dans des zones d'endémie ou d'épidémie cholériques, de rares souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139 possédant les gènes des facteurs de virulence majeurs habituellement associés aux vibrions cholériques, la toxine cholérique, le facteur d'adhésion TCP, le régulon Tox R permettant l'expression de CT et TCP (Quilici et Robert-Pillot, 2011). Une minorité de souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139 produisent également une toxine thermostable (ST) (Cohen *et al.*, 2007). Des facteurs cytotoxiques, des enzymes exocellulaires, plusieurs systèmes de colonisation ont été décrits aussi bien chez des souches isolées de cas cliniques que de l'environnement (Zhang et Austin, 2005 ; Chen *et al.*, 2007). Une hémolysine El Tor-like provoquant une augmentation de la perméabilité vasculaire, pourrait contribuer à la capacité de certains isolats à envahir la circulation sanguine chez les immunodéprimés (Zhang et Austin, 2005 ; Saka *et al.*, 2008). En effet, chez des sujets immunodéprimés ou présentant des pathologies sous-jacentes, les infections à *V. cholerae* non-O1/non-O139 peuvent évoluer vers une septicémie dans 5 % des cas, avec un taux de mortalité de 1 à 4

%, principalement chez les patients développant une septicémie (Butt *et al.*, 2004). Environ 70 % des souches *V. cholerae* non-O1/non-O139 possèdent une capsule polysaccharidique, constituée entièrement de sucres qui augmente la capacité des bactéries à résister à la phagocytose et à provoquer des septicémies chez les sujets immunodéprimés (Zhang et Austin, 2005 ; Cohen *et al.*, 2007 ; Saka *et al.*, 2008).

1.2.3. *Vibrio parahaemolyticus*

Vibrio parahaemolyticus, du fait de son caractère halophile, est une bactérie naturellement présente dans la mer et les eaux saumâtres. Cette bactérie est souvent transmise à l'homme par la consommation de crevettes ou de crabes insuffisamment cuits ou recontaminés après cuisson, et d'huîtres crues (Quilici et Robert-Pillot, 2011).

Des études réalisées aux États-Unis révèlent la présence de *V. parahaemolyticus* dans les huîtres au niveau du détail ainsi que sur les marchés de vente en gros (Cook *et al.*, 2002). Cette étude révèle que, même si les niveaux sont inférieurs à 100 micro-organismes/g dans la majorité des lots testés, ils peuvent dépasser les 10 000 micro-organismes/g dans certaines régions du globe. À la fin des années 1960 et au début des années 1970, *V. parahaemolyticus* a été reconnue comme une cause de maladie diarrhéique dans le monde. Le pouvoir pathogène de cette bactérie est lié à la présence de deux hémolysines, une hémolysine thermostable directe (thermostable direct hemolysin ou TDH) et une hémolysine apparentée à l'hémolysine thermostable directe (tdh-related hemolysin ou TRH) (Zhang et Austin, 2005). Selon la littérature, pratiquement tous les isolats de *V. parahaemolyticus* associés à une gastro-entérite produisent l'une ou l'autre de ces deux hémolysines (Matsumoto *et al.*, 2000).

Deux autres composants hémolytiques ont été identifiés chez *V. parahaemolyticus*, une phospholipase A et une lysophospholipase, mais leur rôle exact n'est pas connu et aucune relation entre leur production et le pouvoir pathogène des souches de *V. parahaemolyticus* n'a été établie (Quilici et Robert-Pillot, 2011). Des souches de *V. parahaemolyticus* d'origine clinique ne possédant ni le gène *tdh* ni le gène *trh*, produisant une protéase ayant une activité sur la croissance cellulaire et provoquant des hémorragies dans les tissus peuvent être létales pour une souris après injection par voie intrapéritonéale ou intraveineuse (Lee *et al.*, 2002). *Vibrio parahaemolyticus* possède deux systèmes de sécrétion de type III (T3SS1 et T3SS2), respectivement présents sur les chromosomes 1 et 2 et qui jouent un rôle de cytotoxicité, d'entérotoxicité et de pouvoir septicémique par le biais d'effecteurs protéiques (Hiyoshi *et al.*, 2010).

Les facteurs de pathogénicité sont rarement mis en évidence dans les souches isolées de l'environnement marin ou des produits de la mer. Selon les études réalisées, seulement 1 à 5% des isolats possèdent le gène *trh* et un travail initié dans l'estuaire de la Gironde a montré que la proportion de ces souches pouvait atteindre jusqu'à 15% (**Robert-Pillot et al. 2004**).

Il subsiste une grande incertitude quant aux doses infectieuses, et on reconnaît généralement que chaque personne est susceptible d'être infectée par *V. parahaemolyticus*, lorsque ce microorganisme est présent en concentration suffisante. Une étude publiée en 2005 par la Food and Drug Administration (FDA) aux Etats-Unis fait état d'une dose infectieuse de 10^6 *Vibrio parahaemolyticus* pour initier une infection chez des volontaires par voie alimentaire (**FDA, 2005**).

1.2.4. *Vibrio vulnificus*

La bactérie *Vibrio vulnificus* est considérée comme l'un des agents pathogènes d'origine hydrique les plus dangereux pour la santé humaine, avec un taux de létalité supérieur à 50% pour les formes septicémiques. Les voies de contamination de *Vibrio vulnificus* sont généralement cutanées mais la voie alimentaire a été aussi décrite (**Quilici et Robert-Pillot, 2011**). Aux Etats-unis, la contamination par voie digestive associée à la consommation d'huîtres crues semble être majoritaire et les infections suite à l'exposition de plaies à l'eau de mer représente 25% à 45% selon les études (**Bross et al., 2007**). Au Japon, les deux voies de contamination sont décrites et les crevettes ont été incriminées dans la voie alimentaire (**Inoue et al., 2008**). En Europe, la contamination est exclusivement par voie cutanée (**Frank et al., 2006**). Diverses techniques de typage moléculaire ont permis de diviser l'espèce *Vibrio vulnificus* en trois biotypes sur la base de caractères biochimiques. Les souches virulentes pour l'homme appartiendraient majoritairement aux biotypes 1 et 3 alors que le biotype 2 est pathogène pour le poisson (**Jones et Olivier, 2009**).

1.2.5. *Vibrio alginolyticus*

Vibrio alginolyticus est l'espèce la plus fréquemment isolée des écosystèmes marins tempérés ou tropicaux (**Hervio-Heath et al., 2002**). Les cas de gastroentérites liés à *V. alginolyticus* sont exceptionnels (**Fournier et Quilici, 2002**). Les infections à *V. alginolyticus* sont principalement des otites, des conjonctivites, des pyodermites superficielles et consécutives à un contact direct avec le milieu marin (**Sganga et al., 2009**). Des facteurs de virulence tels que des protéases, une collagénase et des protéines de la membrane externe responsable de l'adhésion de *Vibrio alginolyticus* aux cellules contribuent à sa pathogénicité (**Qian et al., 2008**). **Gonzalez-Escalona et al. (2006)** ont isolé des huîtres, une souche de *Vibrio alginolyticus* porteuse d'un gène *trh* codant pour une hémolysine présentant 98% d'homologie avec le gène *trh* de *Vibrio parahaemolyticus*. *Vibrio alginolyticus* serait un réservoir de gènes de virulence dans l'environnement aquatique pour d'autres espèces de *Vibrio*, particulièrement *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus* (**Xie et al., 2005**).

1.2.6. *Vibrio mimicus*

Vibrio mimicus et *Vibrio cholerae* partagent près de 100% de similitude au niveau du gène 16S ARNr et montrent autour de 80% ADN-ADN de parenté, ce qui rend la discrimination entre ces espèces difficile pour les taxonomistes et les cliniciens (**Thompson et al., 2003**). Cependant l'analyse de séquences génomiques multiples permet de mieux différencier ces deux espèces (**Thompson et al., 2008**). Elles peuvent également partager d'importants facteurs de virulence, tels que les gènes *ct* et *tcp* (**O'Shea et al., 2004**). Plusieurs espèces de *V. mimicus* isolées de source clinique et environnementale ont montré la production de toxines telles qu'une hémolysine, la zonula occludens toxine et une entérotoxine (**Campos et al., 1996**).

La consommation de crustacés contaminés par *V. mimicus* peut entraîner une gastroentérite (**Acuna et al., 1999**) et cette bactérie a été associée à de petites épidémies ou des cas isolés de diarrhée (**Campos et al., 1996**).

2. Paragonimose

2.1. Définition

La paragonimose ou distomatose pulmonaire est une anthroponose parasitaire due au développement chez les carnivores d'un digène appartenant au genre *Paragonimus* (Keiser et Utzinger, 2009). Cette parasitose est causée par la consommation de crabes ou écrevisses crus ou mal cuits infestés par des métacercaires de *Paragonimus* (Jeon et al., 2005). Elle peut être aussi causée par la consommation de la viande crue ou insuffisamment cuite d'hôte paraténique comme le sanglier infestée par *Paragonimus* (Nakamura-Uchiyama et al., 2002).

2.2. Agents pathogènes

2.2.1. Position systématique

Les douves appartiennent au phylum des Platyhelminthes, à la classe des Trematoda, à la sous-classe des digenea, à l'ordre des Plagiorchiida, à la famille des Troglotremitidae et au genre *Paragonimus* (Keiser et Utzinger, 2009).

2.2.2. Genre *Paragonimus*

Il comprend plus de 50 espèces réparties sur les continents africain, asiatique et américain et environ 15 espèces parmi elles sont pathogènes pour l'homme (Blair et al., 1999; Tandon et al., 2007). En Asie, les espèces telles que *P. skrjabini*, *P. heterotremus*, *P. miyazakii*, *P. huerlungensis*, *P. westermani* et *P. philippinensis* ont été incriminées dans des cas de paragonimose. En Amérique, diverses espèces y compris *P. mexicanus*, *P. ecuadoriensis* et *P. kellicotti*, ont infecté l'homme en Amérique du Sud et Centrale et particulièrement en Colombie, au Mexique, en Équateur et au Pérou (Velez et al., 2000 ; Cornejo et al., 2000 ; Paugam, 2008). En Afrique, les principales espèces de *Paragonimus* sont *P. africanus* et *P. uterobilateralis* (Moyou-somo et al., 2003). En Côte d'Ivoire, d'après Nozais et al. (1996), *P. africanus* serait présent dans la ville de Lakota et *P. uterobilateralis* dans le sud-ouest du pays. Cependant selon Blair et al. (1999), ces résultats ne sont basés que sur des tentatives d'identification portant sur la mesure des œufs éliminés dans les selles ou les expectorations des malades.

2.2.3. Morphologie

Paragonimus est un trématode hermaphrodite qui ressemble à un grain de café. La plus étudiée des espèces de *Paragonimus* qui est *Paragonimus westermani* peut être sous

forme diploïde, triploïde ou tétraploïde (Agatsuma et Hirai, 2005 ; Blair *et al.*, 2007). Les espèces de *Paragonimus* peuvent être différenciées par des critères distinctifs grâce à l'assemblage des caractères suivants:

- la forme générale du corps
- la taille et la disposition des épines
- la forme et le volume des testicules et des ovaires
- le rapport du diamètre des ventouses orale et ventrale
- la forme et la dimension des œufs (Guillermain, 1981 ; Doanh *et al.*, 2007 ; Blair *et al.*, 2007). La figure 12 montre un ver juvénile (a) et deux vers adultes (b et c) de *Paragonimus* sp.

En Côte d'Ivoire, d'après Nozais *et al.* (1996), deux espèces, *P. africanus* et *P. uterobilateralis* serait présentes, c'est la raison pour laquelle nous limiterons notre description à ces deux espèces.

2.2.3.1. *Paragonimus africanus*

Il a un aspect en grain de café et une couleur brun rosé. La longueur de l'adulte est de 16 à 17 mm pour 10 mm de large. La ventouse antérieure est plus grande que la ventouse ventrale, laquelle est située aux deux tiers antérieurs du corps. Des épines tégumentaires existent entre les ventouses. L'ovaire est localisé le plus souvent dans la partie droite du parasite et se divise en cinq branches épaisses et ramifiées. Les deux testicules sont largement étalés et se situent de part et d'autre de la vésicule excrétrice (Voelker et Vogel, 1965). La figure 13 montre le schéma de l'anatomie de *P. africanus*.

2.2.3.2. *Paragonimus uterobilateralis*

Il est nettement plus petit que *P. africanus* car il mesure 6,3 mm de long pour 3,5 mm de large. Les ventouses sont de tailles sensiblement égales. Les épines tégumentaires sont réparties sur l'ensemble du corps. L'appareil génital mâle ressemble à celui de *P. africanus*. Par contre, l'appareil femelle est différent car l'utérus est souvent bilatéral, d'où le nom donné à cette espèce. L'ovaire est irrégulièrement ramifié, plus grêle, digitiforme et étiré en longueur (Voelker et Vogel, 1965). D'après Ripert (1996), les deux espèces précitées peuvent aussi être reconnues sur l'aspect des métacercaires: une seule membrane pour *P. uterobilateralis* et deux membranes pour *P. africanus*.

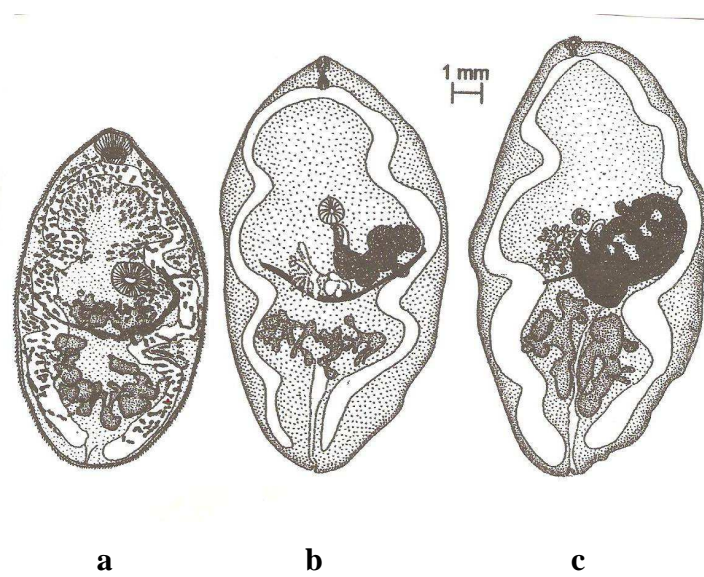


Figure 12: *Paragonimus* sp
Source : Velez *et al.*, 2003

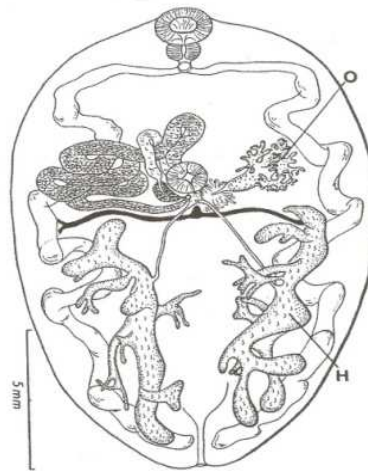


Figure 13: Anatomie de *Paragonimus africanus* (face ventrale)

H : Testicules, O : Ovaires

Source : Miyazaki, 1991

2.2.4. Œufs et stades larvaires de *Paragonimus*

2.2.4.1. Œufs de *Paragonimus* sp.

Les œufs de *Paragonimus* sont de grande taille, ovoïdes, avec un opercule net et aplati, non embryonnés à la ponte et ils contiennent chacun un ovule fécondé entouré d'un amas de cellules nourricières. Ces œufs peuvent mesurer de 80 μm à 100 μm de long. La taille des œufs, comme celle des adultes, est proportionnelle à la ploïdie du parasite. Le développement de l'œuf dure environ trois semaines à 37°C. La coque est lisse, transparente et plus épaissie au pôle opposé à l'opercule. La couleur des œufs varie selon les auteurs : jaune d'or pour **Bossé (1984)**, brunâtre pour **Nozais et al. (1996)**. La figure 14 montre un œuf de *Paragonimus* sp.

2.2.4.2. Miracidium

Le miracidium est ovale et sa surface est recouverte de nombreux longs cils (**Velez et al., 2003**). C'est en fait une larve ciliée libérée de l'éclosion de l'œuf de *Paragonimus* qui après sa pénétration dans le premier hôte intermédiaire de *Paragonimus* (mollusque), se transforme en sporocyste qui formera une rédie mère, laquelle va produire à son tour des rédies filles et des cercaires (**Collet et al., 2012**). La figure 15 montre un miracidium de *Paragonimus* sp.

2.2.4.3. Cercaires

Les cercaires sont des formes aquatiques libres du parasite. On retrouve les cercaires de *Paragonimus* chez les premiers hôtes intermédiaires (mollusques). On a pu observer l'infestation naturelle par des cercaires microcerques comme les cercaires de *Paragonimus* spp. au Cameroun (**Moyou-somo et Simo, 1995**).

Kruidener en 1953, décrit à partir de la cercaire de *P. kellicotti*, six paires de glandes mucoïdes disposées parallèlement à l'axe médian de développement de la cercaire. Le corps des cercaires est recouvert de petites épines dont les plus grandes font 4 μm de long et dont la disposition peut servir à la différenciation de l'espèce (**Guillermain, 1981**).



Figure 14: Œuf de *Paragonimus* sp.

Source : Strobel et Tran, 2004

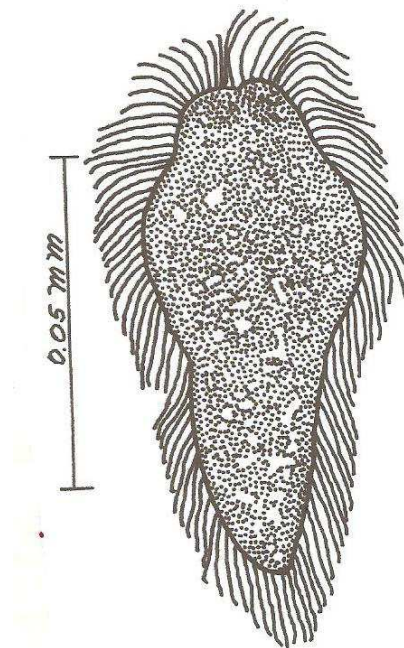


Figure 15: Miracidium de *Paragonimus* sp.

Source: Velez *et al.*, 2003

2.2.4.4. Métacercaires

Les métacercaires de *Paragonimus* sont de petits kystes sphériques que l'on rencontre le plus souvent dans les muscles des crabes (Aka *et al.*, 1999). La métacercaire mature enkystée est globulaire, entourée d'une paroi kystique consistant en une mince membrane externe et une membrane interne épaisse. A l'intérieur, on retrouve le tube digestif, latéralement replié sur lui-même et de larges vésicules excrétoires médianes remplies de granules réfractaires. Les métacercaires servent à la différenciation de l'espèce par leur taille, leur paroi et leur pigment intérieur qui leur confère une certaine couleur (Doanh *et al.*, 2007).

Dans le crustacé, les métacercaires enkystées dans une paroi épaisse sont ainsi protégées des différences de température. Pour tuer l'ensemble des métacercaires dans un crabe, il faut au moins 10 minutes de cuisson à 55°C ou une réfrigération pendant deux jours à moins de 10° C (Guillermain, 1981). Les charges en métacercaires dans chaque crabe sont variables. Il peut y avoir plus de 50 métacercaires dans un individu, si bien que Sachs et Cumberlidge (1991 b) ont défini trois types d'intensité : faible (<10 kystes par crabe), moyenne (de 10 à 50 kystes par crabe) et élevée (> 50 kystes par crabe). La figure 16 montre une métacercaire de *P. africanus*. Le tableau III précise les caractéristiques des métacercaires chez les deux espèces de *Paragonimus* rencontrées en Afrique (Miyazaki, 1991):

Tableau III: Caractéristiques des métacercaires chez *Paragonimus africanus* et *Paragonimus uterobilateralis*

Espèces	Diamètre moyen en µm (limites)	Nombre d'enveloppes
<i>P. africanus</i>	416 à 449	2 (1 externe épaisse ; 1 interne mince)
<i>P. uterobilateralis</i>	702 (493 à 924)	1 (très mince)

2.2.5 Cycle biologique de *Paragonimus*

Le parasite de la paragonimose, quelle que soit l'espèce, obéit à un cycle trihéteroène avec un hôte définitif (un mammifère) et deux hôtes intermédiaires représentés par un mollusque et un crustacé d'eau douce (Keiser et Utzinger, 2009). Chez l'hôte définitif qui peut être l'homme ou un carnivore, les parasites adultes sont localisés dans les sacs pulmonaires et pondent des œufs qui sont éliminés dans les bronches. Là, deux voies s'offrent pour leur élimination : soit ils sont évacués dans le milieu extérieur avec les

expectorations, soit ils sont avalés, passent dans le tube digestif et sont éliminés avec les selles (**Blair et al., 2007**). Dans le milieu extérieur, l'œuf va poursuivre son développement au cours d'une période d'incubation. La durée de celle-ci dépend de la température et de l'humidité qui règnent sur le terrain (**Ripert, 1996**). L'œuf va alors éclore en libérant une larve ciliée : le miracidium qui nage dans le milieu extérieur à la recherche d'un mollusque hôte. Après sa pénétration dans le mollusque (gastéropode) aquatique, le miracidium se transforme en sporocyste. Celui-ci forme une rédie mère, laquelle va produire à son tour des rédies filles et des cercaires (**Collet et al., 2012**). Ce sont ces dernières qui sortent du mollusque. Les cercaires migrent vers des crustacés d'eau douce tels que les crabes et les écrevisses pour s'enkyster en général dans leurs muscles ou leurs branchies et se transformer en métacercaires (**Blair et al., 2007**). La contamination de l'hôte définitif par le parasite se fait lors de la consommation de crustacés mal cuits ou encore de façon accidentelle par l'ingestion de fragments de crustacés lors des préparations culinaires. Les métacercaires se désenkystent dans le duodénum, traversent la muqueuse duodénale et migrent vers le diaphragme pour gagner les poumons du mammifère à 2 à 6 semaines après leur ingestion (**Nawa et al., 2005 ; Paugam, 2008**). Dans les poumons, les adultes qui peuvent vivre entre 6 et 20 ans peuvent pondre plus de 10 000 œufs par jour (**Strobel et Tran, 2004**). Les adultes sont généralement par paires dans les poumons et sont encapsulés dans une réaction fibreuse de l'organisme (**Blair et al., 2007**) et durant tout le temps, ils doivent obtenir les nutriments de l'hôte (**Choi et al., 2006**). La figure 17 décrit le cycle biologique de *Paragonimus*.

2.3. Hôtes intermédiaires de *Paragonimus* sp.

2.3.1. Gastéropodes

En Afrique, peu d'informations sont disponibles sur le premier hôte intermédiaire de *Paragonimus* sp. Deux Gastéropodes Prosobranches ont été incriminés dans le cycle biologique de la paragonimose. Le premier, *Potadoma freethii* (escargot appartenant à la famille des Thiaridae) a été infesté par *Paragonimus* sp. au Cameroun (Asor *et al.*, 2003).

Au Nigéria une autre espèce d'escargot, *Melania* sp. contenait des sporocystes attribués à *Paragonimus* sp. (Arene *et al.*, 1998). Deux mollusques terrestres ont été infestés naturellement par des cercaires microcerques comme les cercaires de *Paragonimus* spp. Le premier est *Homorus striatella* au Libéria (Sachs et Cumberlidge, 1991 a) tandis que le second est *Achatina* sp au Cameroun (Voelker et Sachs, 1977).

2.3.2. Crustacés

Il est admis depuis longtemps que les crustacés tels que les crabes sont responsables de la contamination humaine de la paragonimose (Brumpt, 1949). En Asie, des métacercaires de *Paragonimus westermani* et de *Paragonimus miyazakii* ont été trouvées dans les crabes d'eau douce appartenant à l'espèce *Geothelphusa dehaani* au Japon (Sugiyama *et al.*, 2009) et des métacercaires de *Paragonimus heterotremus* ont été trouvées dans les crabes de montagne appartenant à l'espèce *Potamiscus tannanti* au Vietnam (Doanh *et al.*, 2007). Les principales espèces de crabes hôtes intermédiaires de *Paragonimus* sp. répertoriées en Afrique par Blair *et al.* (1999) et Aka *et al.* (2008 c) sont *Sudanonautes africanus* (Nigeria et Cameroun), *S. granulatus* (Cameroun), *S. aubryi*, *S. floweri* (Nigeria) *Liberonautes chaperi*, *L. latidactylus*, *L. nanoides*, *L. paludicolis* (Liberia) et *Callinectes marginatus* (Bénin, Côte d'Ivoire). En effet, Moyou-Somo *et al.* (2003) ont trouvé un taux d'infestation des crabes de 6 % au Cameroun et Arene *et al.* (1999) ont trouvé un taux d'infestation des crabes de 2,4 % au Nigéria. Au Bénin, Aka *et al.* (1999) ont trouvé une prévalence de 5 % chez le crabe de lagune *Callinectes marginatus* et une prévalence de 20 % a été trouvée par Aka *et al.* (2009) en Côte d'Ivoire chez le crabe *Callinectes marginatus*.

2.4. Hôtes définitifs de *Paragonimus* sp.

En dehors de l'homme, un certain nombre de mammifères sauvages peuvent présenter une infestation naturelle avec *P. africanus* ou *P. uterobilateralis*. En effet, plusieurs espèces comme la civette, la mangouste, le chien ou le mandrille peuvent être porteurs

d'une infestation naturelle avec *Paragonimus* sp. D'autres mammifères ont été parasités avec l'un ou l'autre de ces digènes lorsque des infestations expérimentales ont été pratiquées. C'est le cas de *Cerocebus* sp (singe), de *Cercopithecus aethiops* (singe), de *Macaca mulatta* (Primates) pour *P. africanus*. Pour l'autre douve, citons le chat, le chien et des muridés comme le rat et la souris (**Blair et al., 1999 ; Blair et al., 2007**). Le tableau IV répertorie les principales espèces de *Paragonimus* qui ont affectées l'homme sur les continents asiatique, africain et américain avec leurs hôtes définitifs.

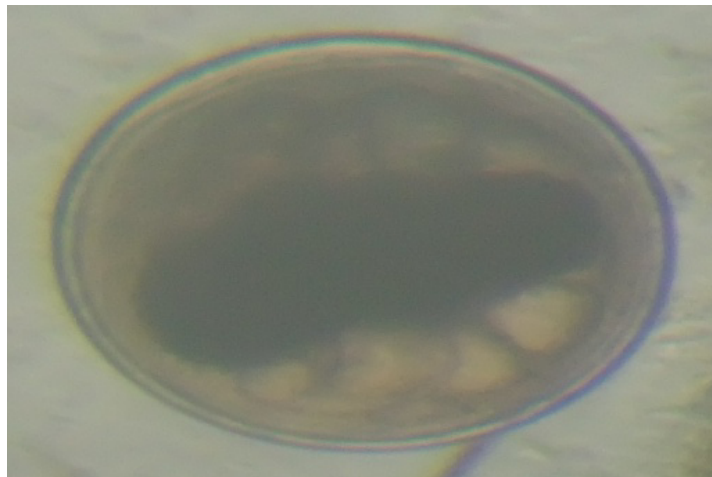


Figure 16: Métacercaire de *Paragonimus africanus*

Source : Photographie prise par Traoré Sylvain en 2010

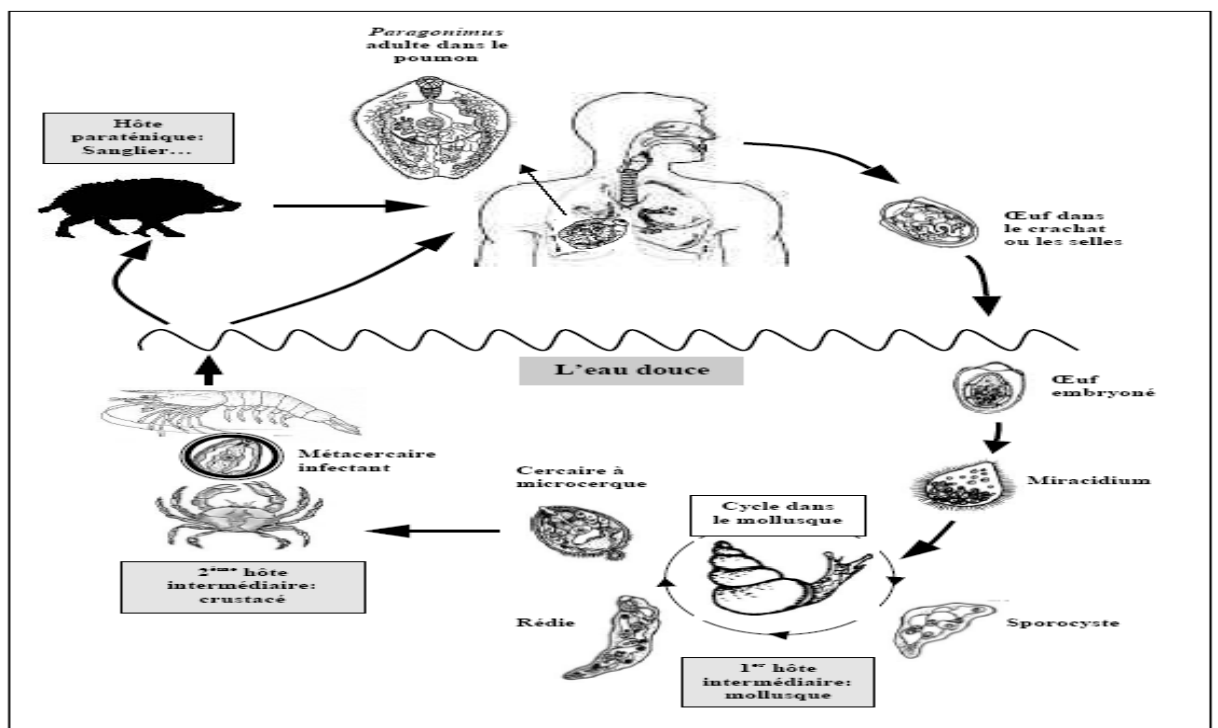


Figure 17 : Cycle de *Paragonimus* sp.

Source: Veasna, 2005

Tableau IV: Distribution géographique et hôtes définitifs d'espèces de *Paragonimus* (Blair *et al.*, 2007).

Espèces	Distribution géographique	Hôtes définitifs
<i>P. westermani</i>	Chine, Corée, Japon, Taiwan, Philippines, Malaisie, Thaïlande, Laos, Vietnam, Cambodge, Inde, Sri Lanka, Népal, Pakistan	Cercopithécidés (primates), Canidés (chien), Félidés (félins), Herpestidae (Mangouste), Viverridés (Civettes), Mustélidés (Loutre, Blaireau), Muridés (rongeurs).
<i>P. skrjabini</i>	Chine, Japon, Thaïlande, Inde	Canidés (chien), Félidés (félins), Herpestidae (Mangouste), Viverridés (Civettes), Mustélidés (Loutre, Blaireau), Muridés (rongeurs)
<i>P. heterotremus</i>	Chine, Vietnam, Laos, Thaïlande, Inde	Félidés (félins), Sciuridés (écureuil), Muridés (rongeurs)
<i>P. africanus</i>	Guinée équatoriale, Cameroun, Nigeria, Côte d'Ivoire	Cercopithécidés (primates), Herpestidae (Mangouste), Viverridés (Civettes), Loridae (primates)
<i>P. uterobilateralis</i>	Cameroun, Nigeria, Libéria, Gabon	Canidés (chien), Herpestidae (Mangouste), Viverridés (Civettes), Mustélidés (Loutre, Blaireau)
<i>P. kellicotti</i>	Mississippi, Québec, Ontario	Didelphidés (Marsupiaux), Canidés (chien), Félidés (félins), Mustélidés (Loutre, Blaireau), Procyonidés (Raton laveur), Suidés (Porcins), Bovidés (bovins, ovins), Muridés (rongeurs)
<i>P. mexicanus</i>	Mexique, Panama, Pérou, Costa Rica, Guatemala	Didelphidés (Marsupiaux), Canidés (chien), Félidés (félins), Cebidés (singes), Mustélidés (Loutre, Blaireau), Procyonidés (Raton laveur), Suidés (Porcins)

2.5. Distribution géographique de la paragonimose humaine

La paragonimose est peu connue en raison d'une distribution en foyers, bien que l'on estime à 290 millions le nombre de personnes à risque et à 21 millions le nombre de sujets touchés dans le monde (**Keiser et Utzinger, 2005**). Cette maladie qui sévit essentiellement en zone tropicale, se distribue principalement sur trois continents : l'Asie du sud-est, l'Afrique et l'Amérique du sud, mais la plus plupart des cas de paragonimose ont été observés sur le continent asiatique (**Aka et al., 2008 c**). En effet, en Asie, des pays tels que le Japon, la Thaïlande, les philippines, la Corée, la Chine et le Vietnam se partagent la grande majorité des patients. En dehors du continent asiatique, des cas ont été signalés en Amérique latine, où les populations ont des habitudes de consommation de crabes et d'écrivisses crus ou insuffisamment cuits (**Nakamura-Uchiyama et al., 2002 ; Moyou-Somo et al., 2003**). La figure montre la carte de la distribution géographique de la paragonimose dans le monde.

En Afrique, des foyers épidémiques ont été rapportés dans une dizaine de pays (2295 cas), principalement autour du Golf de Guinée et en Afrique centrale, mais deux états ont été particulièrement touchés, à savoir le Nigeria (1778 cas) et le Cameroun (454 cas). En Côte d'Ivoire, le premier cas fut découvert en 1974 et 16 cas ont été rapportés dans la littérature (**Aka et al., 2008 c**). La figure 19 montre la carte de la distribution géographique de la paragonimose en Afrique, où des cas humains de paragonimose ont été rencontrés dans 11 pays en orange sur la carte.



Figure 18: Carte de la distribution géographique de la paragonimose dans le monde

Source: Strobel et Tran, 2004

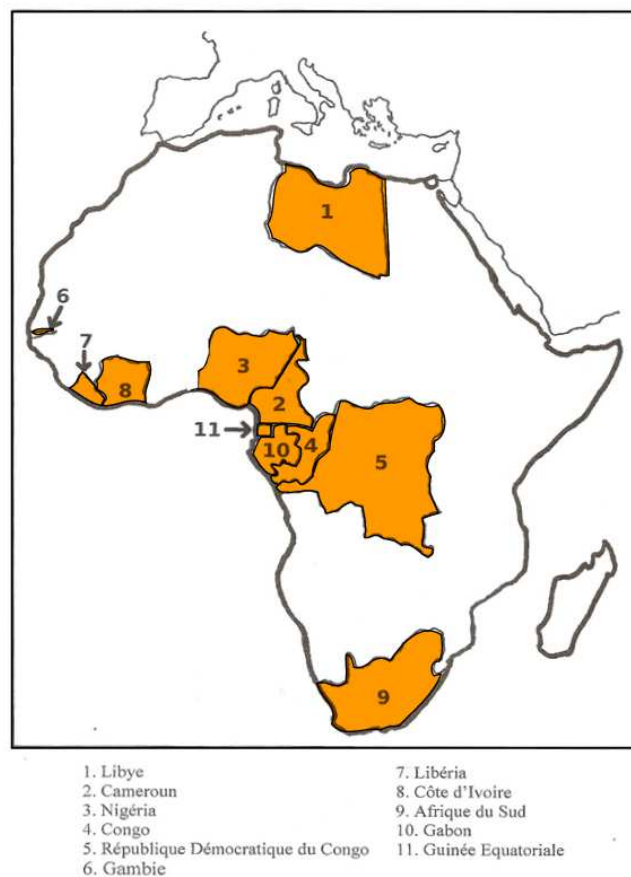


Figure 19 : Localisation géographique des pays africains dans lesquels des cas de paragonimose ont été détectés

Source : Aka *et al.*, 2008 c

2.6. Manifestations cliniques

La paragonimose est généralement méconnue du public, des personnels de santé, et des médecins. Elle est souvent confondue avec la tuberculose et le cancer du poumon (Jeon *et al.*, 2005), ce qui fait que même en zone d'endémie, le diagnostic de la paragonimose humaine n'est pas aisé. En effet, c'est souvent tardivement que les médecins évoquent l'éventualité de cette maladie (Strobel *et al.*, 2005). Au Nigéria et au Cameroun des cas de co-existences entre la paragonimose et la tuberculose ont été rapportés (Nkouawa *et al.*, 2009). La phase de migration et d'invasion du parasite de la paragonimose est caractérisée par une fièvre, une diarrhée, des douleurs abdominales, une toux (Moyou-Somo *et al.*, 2003). Les symptômes caractéristiques d'une localisation pulmonaire du parasite sont la toux chronique, l'hémoptysie (intermittentes), des douleurs thoraciques et des lésions pulmonaires visibles sur radiographie pulmonaire (Moyou-Somo et Tagni-Zukam, 2003). Du fait de la complexité des voies de migration du parasite chez l'hôte définitif, des cas de localisation extrapulmonaire (cutanée et cérébrale) du parasite ont été observés (Nawa *et al.*, 2005).

2.7. Facteurs de risque de la paragonimose humaine

L'endémicité de la paragonimose est la résultante de plusieurs facteurs socio-culturels, écologiques, environnementaux et socio-politiques. Elle persiste dans les zones pauvres et reculées et chez les minorités ethniques (Inde, Chine méridionale, nord Vietnam, Laos) (Tran *et al.*, 2004).

2.7.1. Facteurs socio-culturels

2.7.1.1. Habitudes alimentaires

La paragonimose est étroitement associée aux activités culturelles de l'homme en relation avec son alimentation et la préparation de ses aliments (Blair *et al.*, 2007). Dans les pays asiatiques, la paragonimose est endémique spécifiquement en Chine, Japon, Corée, Thaïlande où les populations aiment consommer des crabes d'eau douce crus ou insuffisamment cuits (OMS/FAO, 2004). En effet, certains mets locaux jouent un rôle prépondérant dans la contamination. A titre d'exemple, nous pouvons citer les mets tels que le Ke-jiang (crabe à la sauce de soja), le crabe en saumure ou macéré au vin de Chine, le Kinilow (crabes ou poissons crus), le Sinigang et le Pla-poo à base de crabe en Thaïlande (Ndozi, 2000). La paragonimose touche de plus en plus les grandes métropoles. En effet, l'habitude de manger cru se modifie: les populations rurales pauvres qui y étaient traditionnellement attachées l'abandonnent peu à peu, alors qu'à l'inverse, dans les villes

japonaises, et auprès des couches aisées, cette habitude est en train d'émerger comme un phénomène de mode (**Nakamura-Uchiyama et al., 2002**).

Dans certaines régions, la maladie touche surtout les enfants en raison de leur plus grande exposition. Ils chassent et consomment sur place les crabes et écrevisses crus (**Tran et al., 2004**). Dans les zones endémiques du Vietnam, **Doanh et al. (2005)** ont rapporté que les enfants ont l'habitude de griller les crabes pendant environ 2 min avant de les consommer, ce qui ne permet pas évidemment de tuer les métacercaires puisque ces auteurs ont trouvé 12 métacercaires vivantes dans deux crabes grillés.

En Afrique, la tendance est de bien faire cuire les aliments, mais certaines pratiques observées lors de la préparation des mets peuvent favoriser la contraction de la paragonimose. Parmi ces pratiques, nous pouvons citer le fait de goûter les plats avant cuisson, la contamination par les mains ou les ustensiles souillés par les formes larvaires de *Paragonimus* et l'ingestion directe d'eau contaminée par les crabes. D'autres pratiques ont été aussi observées au Cameroun où **Ripert et al. (1981)** ont rapporté que les femmes préposées à la pêche aux crabes d'eau douce dans l'ouest de ce pays, s'infestent en arrachant la première paire de pattes locomotrices (pinces), pour éviter d'être blessées par ces animaux, et elles les consomment crues sur le lieu de pêche. Ce type de consommation de crustacés crus sur le lieu de pêche a été également observé à Souanké (Nord ouest du Congo) chez des femmes pratiquant la pêche de la crevette à la nasse (**Ndozi, 2000**).

2.7.1.2. Habitudes non alimentaires

Certaines pratiques traditionnelles à visée non alimentaire liées à la médecine ou à des croyances sont incriminées dans des cas de paragonimose humaine. Ainsi au Laos et en Thaïlande, la chair de crabe crue est administrée aux enfants pour ses propriétés fébrifuges (**Strobel et al., 2005**).

Aussi, certaines tribus du Cameroun (Bakossi) et du Niger (Calabar), croient-elles que le crabe cru a des vertus énergétiques et qu'il augmente la fertilité des femmes ; de plus les petites filles énurétiques sont traitées par absorption de pattes antérieures de crevettes d'eau douce crues (**Ndozi, 2000 ; Moyou-somo et al., 2003**).

2.7.2. Facteurs écologiques et environnementaux

Les facteurs écologiques et environnementaux déterminent la présence des hôtes intermédiaires et des hôtes définitifs de *Paragonimus* spp., et par voie de conséquence, la répartition en foyer d'endémie (**Strobel et al., 2005**). Les mollusques, hôtes intermédiaires

de *Paragonimus* spp. se rencontrent dans les petits cours d'eau avec persistance d'aires humaines en raison de la lenteur du courant et de la présence de végétation d'algues nutritives (Ndozi, 2000).

2.7.3. Facteurs liés à la migration des populations

La migration des populations est une facette de la « triade : pauvreté, pollution et croissance démographique » reconnue pour favoriser les maladies infectieuses. En effet, des raisons économiques et politiques jouent ici un rôle important Ancha et Szifres, (1989), en parlant de la paragonimose, soulignent que « les guerres et les conflits internes qui s'accompagnent de migration de populations et provoquent une raréfaction des sources habituelles de protéines, peuvent contribuer à une fréquence accrue de l'infestation ». A titre d'exemple, une épidémie de paragonimose où plus de 500 malades ont été infestés par *Paragonimus uterobilateralis*, est survenue lors de la guerre civile du Biafra au Nigéria suite à la consommation de crustacés et à la modification des habitudes alimentaires des populations déplacées (Nwokolo, 1972 ; Aka *et al.*, 2008 c).

Par ailleurs, le tourisme international et la floraison de mets exotiques constituent à n'en point douter des sources non négligeables de contamination.

III. Généralités sur l'analyse des risques

1. Définitions

1.1. Analyse du risque

De nombreuses définitions ont été données pour l'analyse de risque. Nous retiendrons celle de **Ahl *et al.* (1993)** reprise par **Cerf *et al.* (1996)** : l'analyse de risque est définie comme « une démarche scientifique faite dans le but d'identifier les dangers connus ou potentiels, d'en apprécier les risques, de les gérer et de communiquer à leur propos ». Elle peut être également définie comme une manière d'organiser les informations disponibles sur un événement potentiel donné, de les traduire en probabilités en tenant compte d'hypothèses, de la variabilité et de l'incertitude, et d'en déduire logiquement des décisions (**Toma *et al.*, 2002**). L'analyse du risque permet donc de donner les moyens d'une évaluation du risque liée aux problèmes alimentaires rigoureusement scientifiques et des mesures préventives qui pourraient être utilisées afin de diminuer le risque (**Schlundt, 2002**). Il convient d'établir une distinction entre risque et danger, ces deux notions étant liées mais distinctes.

1.2. Danger

Le danger est un agent chimique, biologique ou physique présent dans un aliment ou une propriété de cet aliment, susceptible d'avoir un effet adverse (**Codex Alimentarius Commission, 2007**). Selon **Toma *et al.* (2002)**, cette notion peut être considérée sous deux angles. En effet, pour certains, un danger est constitué par tout agent biologique, chimique ou physique pouvant avoir un effet néfaste pour la santé (*Salmonella*, *Trichinella spiralis*) et pour d'autres le danger correspond à la maladie elle-même (la fièvre aphteuse, la salmonellose, la trichinellose, etc.).

1.3. Risque

Le risque est « la probabilité de la survenue d'un danger, combinée à l'importance de ses conséquences indésirables » (**Toma *et al.*, 2002**). Le risque se définit comme étant une fonction de la probabilité d'un effet néfaste sur la santé et de la gravité de cet effet, résultant d'un (ou plusieurs) danger(s) dans un aliment (**Codex Alimentarius Commission, 2007**).

2. Différents concepts de l'analyse des risques

Une des difficultés rencontrées en santé animale et en santé publique vétérinaire est la coexistence de deux modèles de description et d'appellation des étapes de la démarche

en analyse de risque: d'une part, le modèle de l'Organisation Mondiale de la Santé animale (anciennement dénommée Office International des Epizooties, OIE) (Covello et Merkhoffer, 1993) et d'autre part, le modèle du *Codex Alimentarius* issu du groupe de travail de l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture et de l'Organisation Mondiale de la Santé (FAO/OMS) (OMS, 1995). Le modèle le plus largement utilisé en hygiène alimentaire est celui du *Codex Alimentarius*.

2.1. Analyse des risques selon le Codex Alimentarius

La Commission du *Codex Alimentarius* appelée couramment le *Codex Alimentarius* ou même le Codex, fut créée en 1963 par la FAO et l'OMS. Le codex a pour mission de mettre au point des normes mondiales (ou régionales) sur les denrées alimentaires avec pour objectifs de protéger la santé et d'assurer des pratiques loyales dans le commerce des denrées alimentaires (Crepet, 2007). Le principe de l'analyse des risques tel que défini par le *Codex Alimentarius* se divise en trois parties que sont l'évaluation des risques (processus scientifique), la gestion des risques (processus décisionnel ou prérogative politique) et la communication sur les risques (processus d'information et de sensibilisation) (Nicolas, 2009). La figure 20 présente le modèle d'interaction entre les trois processus de l'analyse des risques.

2.1.1. Evaluation du risque

L'évaluation des risques est un processus scientifique basé sur les résultats de l'étude de prévalence (dénombrement) d'un microorganisme donné dans un aliment donné consommé en l'état avec un échantillonnage représentatif (Lebres, 2006). Elle est composée d'une identification des dangers, d'une caractérisation des dangers, d'une évaluation de l'exposition au risque et d'une caractérisation du risque (AFSCA, 2005).

2.1.1.1. Identification des dangers

On indique sur la base qualitative, quels dangers peuvent être associés à la consommation d'une denrée alimentaire spécifique et quels effets néfastes ils peuvent causer pour les consommateurs. Pour ce faire, on fait largement appel à la littérature existante (AFSCA, 2005). Il s'agit de déterminer la nature des contaminants des aliments (Crepet, 2007).

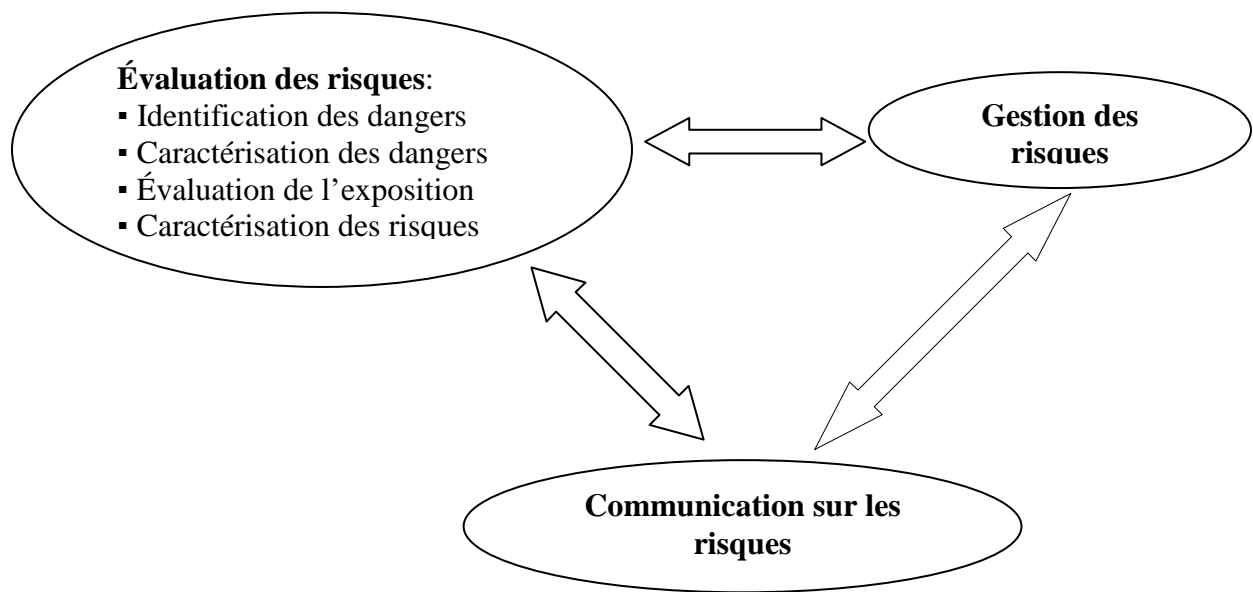


Figure 20: Composantes de l'analyse de risque selon le *Codex Alimentarius*.

Source : *Codex Alimentarius Commission, 2003*

2.1.1.2. Evaluation de l'exposition

Pour évaluer l'exposition, on fait une estimation du niveau de danger auquel le consommateur est exposé au moment de la consommation (AFSCA, 2005). L'élaboration de l'approche de l'évaluation de l'exposition est basée sur deux processus distincts.

Le premier, purement scientifique, est relatif à la prévalence du pathogène dans l'aliment.

Le second est basé sur la collecte d'informations relatives aux principaux paramètres, soit :

- le potentiel de croissance ou d'inactivation du pathogène (le mode de consommation de l'aliment considéré, la durée de stockage de l'aliment et l'intégrité de la chaîne de froid)
- l'estimation de la fréquence et de la taille des portions d'aliment ingérées en fonction des populations susceptibles et non susceptibles
- le sexe des consommateurs
- l'âge des consommateurs
- la contamination après transformation de l'aliment considéré (Lebres, 2006).

2.1.1.3. Caractérisation des dangers ou évaluation du rapport dose-effet

Cette étape consiste en l'évaluation qualitative et quantitative de la nature des effets néfastes pour la santé associés au danger. Lorsque les données sont disponibles la relation dose-effet doit être établie (Sanaa et Cerf, 2002). La caractérisation des dangers est donc liée à l'examen de la relation dose-réponse. On détermine la relation dose-réponse en rassemblant pour un danger donné, des informations qualitatives et quantitatives sur les effets négatifs sur la santé d'une exposition à différentes doses (AFSCA, 2005).

Aucune base de données n'existe sur les relations dose-effet, comme celles que l'on peut trouver pour les substances chimiques. La recherche bibliographique des données s'impose donc en prenant en compte les différentes sources de données disponibles : études expérimentales sur volontaires sains, études expérimentales sur animaux modèles, études épidémiologiques, menées à l'occasion ou non d'épidémies (Bonnard, 2001).

Les réponses d'une population humaine aux expositions à un pathogène d'origine alimentaire sont très variables, ce qui indique que l'incidence de la maladie est fonction de plusieurs facteurs, parmi lesquels :

- les caractéristiques de virulence du pathogène
- le nombre de cellules ingérées
- l'état de santé général
- l'état immunitaire de l'hôte
- les attributs de la matrice alimentaire qui modifient l'état du microbe ou de l'hôte

- l'effet de l'exposition préalable au pathogène d'origine alimentaire, sur la réponse immunitaire de l'hôte (**Lebres, 2006**).

L'infection peut être considérée comme le franchissement avec succès par le micro-organisme pathogène des différentes barrières de l'hôte (**Sanaa et Cerf, 2002**). Pour l'évaluation du rapport dose-effet, deux types de modèles existent, les modèles empiriques qui reposent sur l'hypothèse d'une dose minimale et les modèles mécanistiques qui reposent sur aucun seuil de tolérance ou aucune dose minimale.

2.1.1.3.1 Modèles empiriques

Les modèles empiriques reposent sur l'hypothèse d'un seuil de tolérance ou d'une dose minimale infectante pour chaque individu vis-à-vis d'un germe infectieux. Les modèles empiriques supposent une coopération entre les microorganismes ingérés faisant intervenir la notion de dose minimale infectante. Dans ce cas, l'infection est le résultat de l'action conjointe de plusieurs cellules bactériennes et elle ne devient possible que si k bactéries dépassent un seuil k_{\min} . Pour une exposition à une dose supérieure à ce seuil de tolérance, l'infection va se déclencher. Pour une exposition à une quantité de germes inférieure, il n'y aura pas d'infection chez l'individu considéré. La distribution des seuils de tolérance est représentée par une fonction de densité de probabilité. Un des modèles les plus étudiés suppose que ce seuil de tolérance est distribué selon une fonction log-normale (**Bonnard, 2001**).

2.1.1.3.2 Modèles mécanistiques

Les modèles mécanistiques considèrent que la probabilité de développer une infection dépend d'une part de la quantité de germes avec laquelle l'hôte entre en contact et d'autre part de la fraction de ces germes qui va effectivement atteindre un site d'infection (**Bonnard, 2001**). Ces modèles sans seuil supposent une indépendance d'action des microorganismes. Chaque bactérie a une chance non nulle de provoquer à elle seule l'infection (**Sanaa et Cerf, 2002**).

L'infection est alors le résultat de processus séquentiels.

Soient : $P_1 (j/d)$: la probabilité pour un individu d'entrer en contact avec une quantité j de germes à partir d'un milieu induisant une exposition à une dose moyenne d (qui peut être le produit d'un volume et d'une densité).

$P_2 (k/j)$: la probabilité que k germes survivent, permettant d'initier une infection chez l'hôte, pour une quantité j de germes avec laquelle l'hôte est entré en contact. Si on considère ces deux processus comme indépendants et si k_{\min} est le nombre

minimal de germes nécessaires dans l'organisme-hôte pour déclencher une infection, alors la probabilité $P(d)$ de développer une infection pour une dose moyenne d'exposition d peut s'écrire :

$$P(d) = \sum \sum P1\left(\frac{j}{d}\right) \times P2\left(\frac{k}{j}\right)$$

Formule (2) (Bonnard, 2001).

Les modèles disponibles supposent tous l'absence de dose minimale. Les trois principaux modèles utilisés en appréciation quantitative des risques microbiologiques sont : le modèle exponentiel, le modèle Bêta-Poisson et le modèle Weibull-Gamma (Sanaa et Cerf, 2002).

Le modèle exponentiel s'adapte aux données obtenues sur les virus et les protozoaires (*Giardia* et *Cryptosporidium*). Le modèle exponentiel est un modèle sans seuil, où la probabilité de survie et de l'initiation de l'infection (R) est constante et le nombre de bactéries n ingérées n'est pas parfaitement connu mais supposé suivre une distribution de Poisson de paramètre d . La distribution de Poisson est applicable au cas où la contamination de l'aliment est considérée comme homogène. Cette distribution convient parfaitement aux aliments liquides. La probabilité d'être infecté suite à l'ingestion d'une portion d'aliment dans lequel la contamination moyenne est égale à d s'exprime de la façon suivante :

$$\text{Probabilité}\left(\frac{\text{infection}}{d}\right) = 1 - e(-R \times d)$$

Formule (3) (Sanaa et Cerf, 2002).

Le modèle Bêta-Poisson s'adapte aux données obtenues sur les bactéries entériques (*Vibrio*, *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*) (Haas *et al.*, 1999). Si l'on fait l'hypothèse à partir du modèle exponentiel, que la probabilité d'infection liée à l'ingestion d'une bactérie varie entre les individus, et que l'on attribue à R une distribution Bêta de paramètres α et β , nous obtenons par une approximation mathématique, le modèle Bêta-Poisson :

$$P = 1 - (1 + d/\beta)^{-\alpha} \text{ ou } P = 1 - [1 + d/d50 (2^{1/\alpha} - 1)]^{-\alpha}$$

Formule (4)

P est la probabilité de maladie ou d'infection, d est la dose moyenne de l'agent pathogène ingérée (la dose d suit une loi de Poisson : d'où le nom attribué au modèle) et $d50$ la dose médiane (provoquant l'infection chez 50 % des personnes ayant consommé l'aliment) ; α et β sont des paramètres qui décrivent la sensibilité de l'hôte (suivant une loi Bêta) et qui sont spécifiques à l'agent pathogène considéré (Sanaa et Cerf, 2002).

Le modèle Weibull-Gamma est une extension du modèle Weibull qui tient compte de l'hétérogénéité hôte/pathogène et dont le paramètre permettant d'estimer la probabilité de maladie liée à l'ingestion d'une cellule bactérienne suit une distribution Gamma de paramètres α et β .

L'expression du modèle Weibull-Gamma est :

$$P = 1 - [1 + d^b / \beta]^{-\alpha} \quad \text{Formule (5)}$$

P est la probabilité de l'infection, d la dose ingérée de micro-organismes, α , β , et b sont les paramètres du modèle. Comme dans les autres modèles, d est la dose moyenne de l'agent pathogène (Sanaa et Cerf, 2002).

2.1.1.4. Caractérisation des risques

La probabilité de contracter une maladie d'origine alimentaire dépend de l'évaluation de l'exposition au risque et de la relation dose-réponse (Lebres, 2006). Les informations collectées au cours des étapes précédentes sont regroupées et les maladies ou troubles sont classées selon leurs gravités et leurs conséquences économiques et sociales. Ce classement doit ensuite permettre de prendre une décision concernant l'acceptation ou la non acceptation du risque donné. La caractérisation des risques doit également englober tous les facteurs qui peuvent avoir un effet sur le risque, et indiquer le degré de fiabilité de l'estimation du risque. Il faut toutefois faire remarquer que la probabilité avec laquelle un danger donné se présente ne peut jamais être réduite à zéro. Il faudra donc toujours accepter un certain niveau de risque, et cette acceptation dépendra fortement de l'effet induit sur la santé de l'homme, de la perception des risques, des aspects culturels, des aspects sociaux et des problèmes économiques qui y sont liés, ainsi que de la législation en vigueur (AFSCA, 2005).

Le risque peut être caractérisé par le calcul du risque annuel d'infection lié à de multiples expositions à l'aide de la formule 6.

$$P' = 1 - (1 - P)^{365} \quad \text{Formule (6) (Smeets et al., 2008)}$$

P' est la probabilité annuelle d'infection, P est la probabilité d'infection calculée précédemment par la relation dose-réponse donnée par la formule 4.

2.1.2. Gestion des risques

La gestion du risque est définie dans le codex comme le processus consistant à mettre en balance les différentes politiques possibles compte tenu des résultats de l'évaluation des risques et au besoin à choisir et à mettre en œuvre les mesures de contrôle et notamment les mesures réglementaires appropriées (FAO, 1997).

2.1.3. Communication sur les risques

La communication du risque est une procédure interactive d'échange d'informations entre les parties intéressées concernant la nature, la grandeur, la signification ou le contrôle du risque (Covello, 1992). La communication du risque est définie par l'OIE comme « *la démarche interactive d'échange d'informations relatives au risque entre les personnes chargées d'apprécier le risque, celles chargées de le gérer et toutes les autres parties intéressées* » (Anonyme 3, 1997).

2.2. Analyse des risques selon l'Organisation Mondiale de la Santé Animale (OIE)

Le principe de l'analyse des risques tel que défini par l'OIE créée en 1924 se divise en quatre parties :

- l'identification des dangers
- l'appréciation du risque
- la gestion du risque
- la communication relative au risque.

La figure 21 présente le modèle d'interaction entre les quatre processus de l'analyse des risques selon l'OIE.

L'identification du danger, la gestion du risque et la communication du risque sont les mêmes concepts et correspondent aux mêmes définitions que celles précisées pour l'analyse des risques selon le *Codex Alimentarius*. L'appréciation du risque correspond, en fait, d'une part, à une estimation du risque et d'autre part, à l'évaluation du risque (Toma et al., 2002).

A coté de ces deux modèles, il y'a le système HACCP qui identifie les dangers spécifiques et les mesures pour leur contrôle dans la but d'assurer la sécurité des aliments.

2.3. Analyse participative des risques

Dans les pays développés, l'analyse des risques est la meilleure pratique actuelle et la clé de voûte de la réglementation à la fois de la sécurité alimentaire domestique et du commerce international. Cependant, son utilisation dans les pays en développement a été

limitée particulièrement dans le secteur informel où les mesures de contrôle des risques sont insuffisantes voire quasi inexistantes du fait de l'absence de l'analyse des risques dans les chaînes alimentaires (production et distribution des aliments). L'analyse des risques n'a pas été appliquée aux marchés nationaux où les gens les plus pauvres vendent et achètent de la nourriture, où les niveaux d'hygiène et de sécurité sont les plus bas, et la vulnérabilité d'origine alimentaire de la maladie la plus élevée (**Grace et al., 2008**).

Face au déficit d'informations sur les risques et les moyens de gestion de ces risques, de nouvelles approches sont promues en associant la « participation » aux approches de l'OIE et de la FAO/OMS (*Codex Alimentarius*). Depuis leur introduction dans les années 1970, les méthodes et les techniques participatives sont devenues des outils centraux pour le développement communautaire et ont été appliquées dans une variété de contextes et secteurs.

Les méthodes participatives sont promues sur la base qu'elles sont plus efficaces, plus durables, moins coûteuses et plus éthiques dans leur inclusion des pauvres dans la planification et des décisions qui les touchent (**Duraiappah et al., 2005**). Ces dernières années ont vu beaucoup d'intérêt dans l'adaptation de l'analyse des risques pour les pays en développement. L'analyse participative des risques (APR) est une combinaison des approches participatives (équité, inter –et transdisciplinarité) et les méthodes HACCP (Hazards Analysis of Critical Control Point), et *Codex Alimentarius* (OIE / OMS / FAO) qui prend en compte la variabilité, l'incertitude, la relativité et la complexité des prises de décisions. L'analyse du risque par les méthodes HACCP et le *Codex Alimentarius* est un processus linéaire, complexe et difficile à mettre en œuvre dans le secteur informel, d'où l'émergence des guides de bonnes pratiques et de la participation pour prendre en compte des données qualitatives. L'APR peut donc contribuer à la gestion efficace, concertée et durable du risque. Elle implique tous les acteurs de la chaîne des denrées alimentaires et permet de capter à travers des entretiens, les informations qui pourraient échapper au secteur médical surtout en matière d'exposition, de dose-effet et de caractérisation du risque (**Bonfoh, 2010**). En Afrique, deux groupes de recherche travaillent actuellement sur l'APR : l'un au Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS) et l'autre à l'International Livestock Research Institute (ILRI) au Kenya (**Grace et al., 2010**). La figure 22 présente le modèle d'interaction entre les trois processus de l'analyse participative des risques.

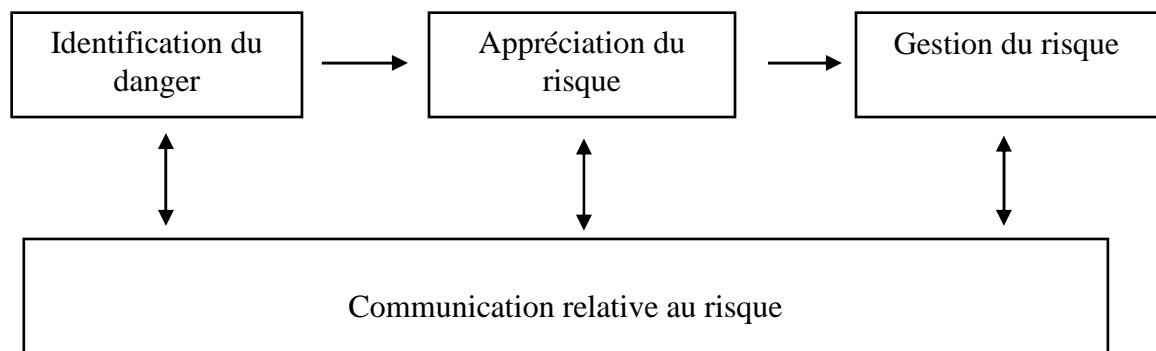


Figure 21: Composantes de l'analyse de risque selon OIE

Source : Toma *et al.*, 2002

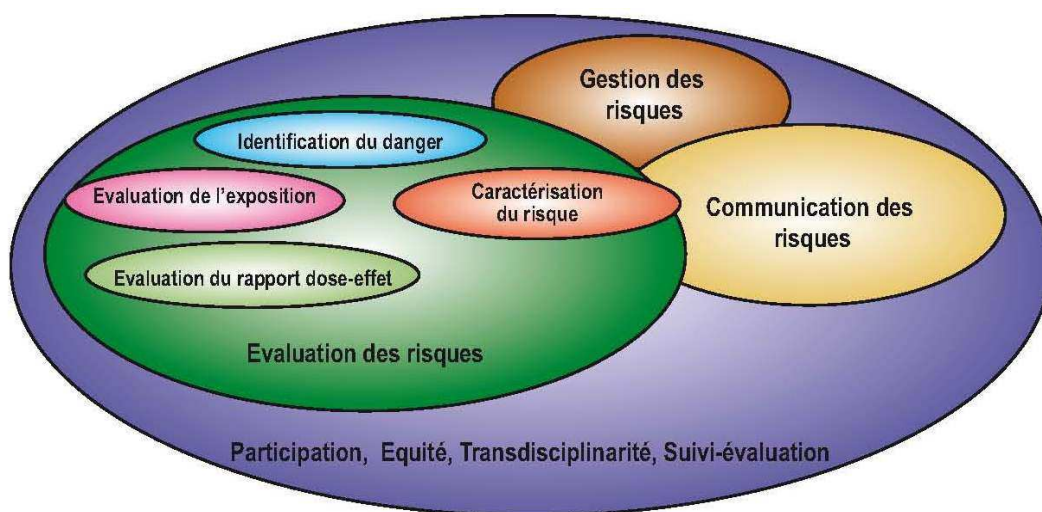


Figure 22: Concept d'analyse participative des risques

Source : Bonfoh, 2010

3. Réalisation de l'analyse des risques

La réalisation d'une analyse des risques commence par la construction d'un arbre d'événements qui est un modèle schématique (Vose, 2005), représentant autant que possible la réalité. Ce modèle schématique permet de déterminer les informations à collecter aux différentes étapes et l'analyse des risques peut être modélisée soit de manière déterministe, où l'on utilise une valeur moyenne estimée pour chaque paramètre, soit de manière probabiliste, où l'on tient compte de la distribution de probabilité de chaque paramètre (Toma, 2002). La méthode déterministe est plus simple et rapide mais elle donne un résultat uniquement ponctuel. Quant à la méthode probabiliste, elle nécessite des distributions de probabilités pour représenter soit la variabilité, soit l'incertitude sur un paramètre et chaque variable entrant dans le modèle probabiliste sera remplacée par une loi de distribution selon la nature de la variable et du processus stochastique sous-jacent (Pouillot *et al.*, 2002). La méthode probabiliste est souvent utilisée pour la caractérisation de certains processus aléatoires parce qu'elle aboutit à une distribution de probabilité du risque et permet d'affiner l'interprétation des résultats issus du modèle.

Le modèle global est constitué d'une succession de modèles partiels où les variables de sortie à une étape servent de variables d'entrée pour les étapes suivantes (Nauta, 2001), ce qui fait qu'à chaque étape, on obtient une représentation déterministe ou probabiliste des paramètres de sortie (Pouillot *et al.*, 2002). Les différents modules qui constituent les étapes du modèle et qui établissent les relations entre variables d'entrée et de sortie, peuvent être construits à partir des données récoltées sur le terrain ou prises dans la littérature scientifique et lorsque le modèle est construit, il est possible d'obtenir des distributions de probabilité des variables en utilisant les simulations de type Monte Carlo (Thusfield, 2007). Avec cette méthode, chaque variable est considérée comme échantillonnée dans sa distribution de probabilité et pour produire un grand nombre de scénari ou d'itérations, on réalise un échantillonnage aléatoire de chaque distribution de probabilité dans le modèle. Les distributions des variables du modèle dépendent généralement des valeurs échantillonnées pour d'autres variables en amont dans le modèle et le modèle génère ainsi une distribution finale suite à la succession des variables des différents modules traduisant le risque et intégrant toutes les sources de variation et d'incertitude rencontrées dans le processus (Pedro et Boris, 2005).

Après la construction du modèle global, l'exploitation des résultats peut être aussi réalisée par une analyse de sensibilité qui permet d'identifier les variables qui ont le plus d'influence sur un paramètre d'intérêt (Zwietering et Van Gerwen, 2000). L'analyse de

sensibilité peut être symbolisée sous la forme d'un graphique type tornade où la longueur des barres représente l'influence de la variable sur la variable d'intérêt (Vose, 2008).

DEUXIEME PARTIE: MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

1. Matériel biologique

Le matériel biologique utilisé pour la recherche de *Vibrio* et de *Paragonimus* est constitué d'une part, des crabes des genres *Cardisoma* (crabes poilus), *Callinectes* (crabes plats de lagune) et d'autre part des crevettes des genres *Macrobrachium* et *Penaeus*. Celui utilisé pour la recherche d'œufs de *Paragonimus* et d'autres parasites est constitué des selles et des crachats des patients des centres antituberculeux d'Adjamé et de Treichville, et des selles des élèves de N'Gatty et d'Allaba. Les crachats des patients de ces deux centres antituberculeux ont été aussi utilisés pour la recherche du Bacille de Koch (BK). La figure 23 montre les photographies des crabes des genres *Cardisoma* (a), *Callinectes* (b) et des crevettes des genres *Penaeus* (c) et *Macrobrachium* (d).



Figure 23: Photographies des crabes des genres *Cardisoma* (a) et *Callinectes* (b), et celles des crevettes des genres *Penaeus* (c) et *Macrobrachium* (d)

2. Réactifs et milieux de culture

Les suspensions-mères pour la recherche de *Vibrio* dans les crustacés ont été préparées avec de l'eau peptonée alcaline à 2 % de NaCl. Cette solution a également été utilisée pour le dénombrement de *Vibrio* par la méthode du Nombre le Plus Probable (NPP). Le milieu Thiosulfate Citrate Bile Saccharose (TCBS) (Biorad, Marnes, la coquette) a servi à isoler les espèces du genre *Vibrio*. La gélose nutritive alcaline (GNA) (Biorad, France) à 2 % de NaCl a été utilisée pour l'obtention de souches pures de *Vibrio*. Les milieux du portoir de Leminor, des disques d'OrthoNitroPhényl β -D-Galactopyranoside (ONPG), le milieu liquide sans peptone de Falkow pour la recherche de l'ornithine décarboxylase, le bouillon cœur-cerveau, un kit de Gram, le réactif de Kovacs ainsi que des galeries API 20 E ont été utilisés pour l'identification biochimique des espèces de *Vibrio*.

Pour la caractérisation moléculaire des souches de *Vibrio* isolées des crustacés, la gélose Marine Agar (DICO Laboratory, USA) avec le kit de purification InstaGene Matrix, de l'agarose à 2 %, un tampon Tris-borate-EDTA (TBE, France), du Bromure d'Éthidium (BET, France), un mix PCR constitué d'eau distillée stérile (H₂O), du MgCl₂, des désoxyribonucléotides triphosphate (dNTPs, France) et des amorces ont été utilisés. La souche *V. cholerae* N° CNRVC 980324 a été utilisée comme témoin positif pour la confirmation par PCR des espèces de *V. cholerae* identifiées par la galerie API 20 E et la recherche des gènes de virulence *ctxA* et *ctxB*. La souche *V. mimicus* N° CNRVC 000004 a été utilisée comme témoin négatif pour la confirmation par PCR des espèces de *V. cholerae* identifiées par la galerie API 20 E et la souche *V. cholerae* non O1 ; non O 139 N° CNRVC 040221 a été utilisée comme témoin négatif pour la recherche des gènes de virulence *ctxA* et *ctxB*. Les souches *V. parahaemolyticus* N° CNRVC 010089 et *V. parahaemolyticus* N° CNRVC 020234 ont été utilisées comme témoins positifs pour la confirmation par PCR des espèces de *V. parahaemolyticus* identifiées par la galerie API 20 E. La souche *V. alginolyticus* N° CNRVC 950768 a été utilisée comme témoin négatif pour la confirmation par PCR des espèces de *V. parahaemolyticus* identifiées par la galerie API 20 E. La souche *V. parahaemolyticus* N° CNRVC 0100899 a été utilisée comme témoin positif pour la recherche des gènes de virulence *tdh* et *trh* et la souche *V. parahaemolyticus* N° CNRVC 020234 a été utilisée comme témoin négatif pour la recherche des gènes de virulence *tdh* et *trh*.

Les analyses parasitologiques des selles des patients et des élèves ont été réalisées en utilisant les techniques de Ritchie, de Kato-Katz et d'éther-concentration. Ainsi de l'eau

formolée à 10 % et de l'éther ont été utilisés dans la technique de Ritchie. Les solutions d'acide formique d'acétate de sodium (0,85% de NaCl) et du diéthyl éther, ont été utilisées dans la technique d'éther-concentration. Le vert de Malachite et le glycérol ont été utilisés pour la technique de Kato-Katz.

Pour la recherche du bacille tuberculeux dans les crachats des patients, l'auramine a été utilisée, et pour la recherche d'œufs de *Paragonimus* dans les crachats des patients des deux centres antituberculeux, du NaOH a été utilisé.

3. Appareil et équipement

Les coordonnées des marchés de prélèvement des crustacés, des centres antituberculeux et des écoles primaires ont été obtenues à l'aide d'un GPS (Garmin etrex).

Un dictaphone a été utilisé pour l'enregistrement des « focus group discussions » ou discussions de groupe. Les températures auxquelles les crustacés sont vendus sur les marchés, ont été mesurées directement dans les contenants de vente (paniers, cuvettes ou assiettes) à l'aide d'un multimètre (WTW 341 i, Allemagne).

Les crustacés ont été broyés dans un Stomacher (Colworth 400) pour la recherche de *Vibrio*. La balance (AG 204 Delta rouge) a servi à la pesée des milieux de culture qui après préparation ont été stérilisés à l'autoclave (HMC, Suisse). Les manipulations bactériologiques ont été réalisées sous une hotte à flux laminaire (Cytair, France). L'observation de la mobilité des bactéries s'est faite au microscope optique (Carl Zeiss 2060571, Allemagne)

Les métacercaires retrouvées dans les crustacés et les souches de *Vibrio* ont été conservées au congélateur (Zaiko UFC-Z 150 S, France).

Les analyses des crachats et des selles des patients et des élèves ont nécessité l'utilisation d'une centrifugeuse (CWS 4236).

II. Méthodes

1. Sites d'études

✓ Choix des sites d'études et des marchés de prélèvement des crustacés

Les villes d'Abidjan et de Dabou (à 49 km d'Abidjan sur le littoral) ont été choisies comme sites d'étude en se basant d'une part, sur les observations d'une prospection que nous avons effectuée d'août à septembre 2008, et d'autre part, sur des données de littérature. Cette prospection a en effet été réalisée sur les grands marchés des villes d'Abidjan, de Dabou, de Divo, de Grand-Lahou, de Lakota, de Man et de San Pédro et

dans les centres antituberculeux (CAT) ou les centres de dépistage de la tuberculose (CDT) de ces villes.

La prospection a permis d'observer que les crabes vendus sur ces marchés appartiennent au genre *Callinectes* (crabes plats) et à l'espèce *Cardisoma armatum* (crabes poilus). Les crevettes appartiennent aux genres *Macrobrachium* (grosses crevettes) et *Penaeus* (petites crevettes) et aucune espèce d'écrevisse n'est vendue sur les marchés des villes sus-citées. Ces crustacés ont été donc choisis pour la recherche de *Vibrio* et de métacercaires de *Paragonimus*.

Elle a permis en outre de remarquer que les crustacés qui sont vendus sur les grands marchés d'Abidjan proviennent pour la plupart de Dabou et que le marché de Yopougon/Siporex occupe une place très importante dans le circuit de distribution des crustacés. Certains marchés comme le grand marché d'Attécoubé, le marché des deux-plateaux, les marchés d'Avocatier et de l'Habitat dans la commune d'Abobo qui s'approvisionnent au marché de Yopougon/Siporex, n'ont pas été retenus pour l'étude ainsi que le marché du plateau qui n'est pas un marché de vente de crustacés.

Par ailleurs, le marché de Yopougon/Siporex occupe une place très importante dans la vente des crustacés, et la ville d'Abidjan est un important point de débarquement de la pêche artisanale maritime. En effet, en 1982, les débarquements du crabe *Callinectes amnicola* en lagune Ebrié était de 1 000 tonnes au point de vente de Dabou (**Cormier-Salem, 1999**) et en 2005 Abidjan était le point de débarquement le plus important de la pêche artisanale maritime avec 7650 tonnes (**FAO, 2008**).

Les grands marchés d'Adjamé (Forum), de Koumassi, de Marcory, de Port Bouët, de Treichville, de Yopougon/Siporex, repertoriés sur la figure 24 et le grand marché de Dabou ont donc été retenus pour le prélèvement des crustacés en vue de la recherche de *Vibrio* et de métacercaires de *Paragonimus*. Une enquête ménage sur la consommation des crustacés a été réalisée dans les dix communes d'Abidjan et une enquête auprès des vendeuses de crustacés a été réalisée sur ces 7 marchés.

Les deux principaux centres antituberculeux (CAT) d'Abidjan (le CAT d'Adjamé et le CAT de Treichville), repertoriés sur la figure 24, ont été choisis parce qu'ils sont les plus grands centres antituberculeux de la Côte d'Ivoire. Ils reçoivent le plus de patients qui viennent consulter pour une tuberculose pulmonaire et parmi lesquels, des cas de paragonimose humaine pourraient être dépistés du fait que ces deux maladies ont les mêmes symptômes. La recherche d'œufs de *Paragonimus* et du bacille tuberculeux dans

les crachats et leur recherche dans les selles des patients ont été effectuées dans ces deux centres antituberculeux.

Les écoles primaires des villages de N’Gatty et d’Allaba (Dabou) (figure 25) ont été choisies parce que les crustacés qui proviennent de Dabou et qui sont vendus sur les marchés d’Abidjan, sont pêchés pour la plupart dans ces deux villages. La recherche d’œufs de *Paragonimus* dans les selles des élèves a été effectuée dans ces deux écoles primaires. Les coordonnées des marchés de prélèvement des crustacés, des deux CAT d’Aidjan et des deux écoles primaires de Dabou sont en Annexe I.

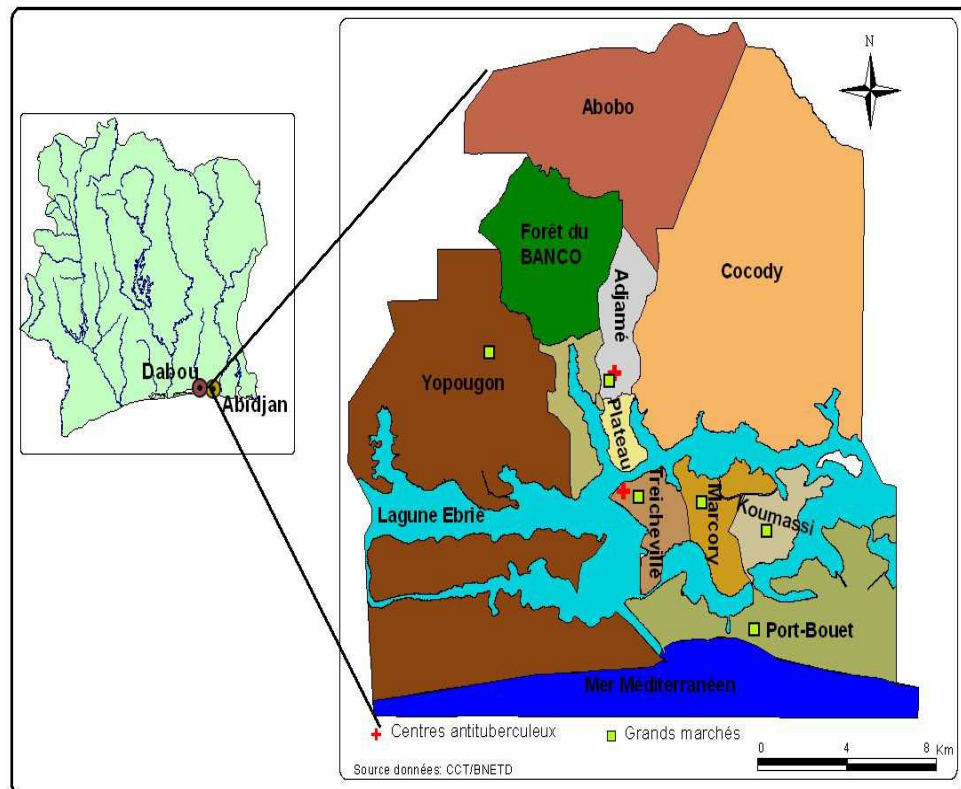


Figure 24: Localisation géographique des grands marchés de prélèvement des crustacés à Abidjan et des CAT d'Adjamé et de Treichville

Source : BNETD

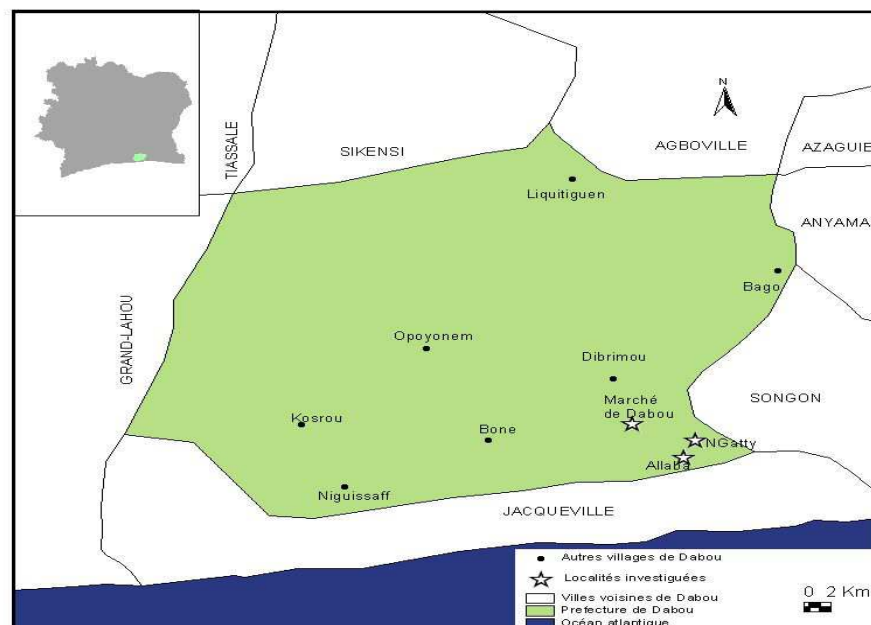


Figure 25: Localisation géographique du grand marché de Dabou et des deux écoles primaires de Dabou

Source : BNETD

2. Enquête auprès des ménages et des vendeuses de crustacés pour la détermination des potentiels facteurs de risques d'infections à *Vibrio* liés aux traitements et à la consommation des crustacés

2.1. Calcul de la taille des échantillons de ménages enquêtés à Abidjan

Le calcul de la taille des échantillons de ménages enquêtés à Abidjan a été fait en se basant sur les résultats d'une enquête préliminaire sur la consommation des crustacés que nous avons réalisé à Yopougon (Sideci) pour déterminer le pourcentage de ménages qui consomment les crustacés au niveau d'Abidjan. Ce pourcentage était estimé à 96 %, avec une erreur de 5 %, une précision de 5 % et une puissance de 80 % sur ce pourcentage nécessitera un échantillon d'au moins 60 ménages déterminé selon la formule (7) ci-après.

$$n = pq / (E/1,96)^2$$

Formule (7) (OMS, 1991)

avec n : la taille minimale des crustacés

E : la marge d'erreur tolérée (%) estimée ici à 5 %

$q = 100 - p$

p : la proportion attendue des crustacés à analyser.

Cette taille minimale a été multipliée par 2 ($n=120$) de sorte à augmenter le nombre de ménages afin de mieux les répartir dans les différentes communes et d'avoir une estimation plus précise des résultats d'enquête.

Les 120 ménages à enquêter ont été répartis dans l'ensemble des dix communes de la ville d'Abidjan proportionnellement à chaque commune c'est-à-dire par choix raisonné en tenant compte du nombre de ménages dans chaque commune. Le nombre de ménages dans chaque commune a été obtenu grâce au recensement général de la population ivoirienne de 1998 (**Institut National de la Statistique de la Côte d'Ivoire, 1998**). La carte de chacune des dix communes de la ville d'Abidjan (Annexe II) a été obtenue auprès du BNETD et les quartiers de chacune des dix communes répertoriés sur ces cartes ont été listés, puis un quartier par commune a été tiré de manière aléatoire et l'enquête s'y est déroulée. Le tableau V donne le nombre de ménages enquêtés par commune.

Tableau V: Nombre de ménages enquêtés par commune

Communes	Quartiers	Nombre de ménages enquêtés
Abobo	Abobo-Baoulé	24
Adjamé	Mairie II	11
Attécoubé	Locodjoro	09
Cocody	Cité des cadres	11
Koumassi	Ancien Koumassi	15
Marcory	Marché	08
Plateau	Gare lagune	01
Port-Bouet	Cité douanes	10
Treichville	Jeanne d’Arc	04
Yopougon	Municipalité	27
Total		120

2.2. Critères d’inclusion des ménages

Les ménages qui consomment les crustacés à Abidjan ont été inclus dans l’étude.

2.3. Critères de non inclusion des ménages

Les ménages qui ne consomment pas les crustacés n’ont pas été inclus dans l’enquête.

2.4. Réalisation de l’enquête ménage

La méthode des stylos combinée à la méthode des nombres aléatoires a été utilisée pour réaliser l’enquête sur la consommation des crustacés auprès des ménages à Abidjan (Bakhshi et Trani, 2007).

La méthode du stylo consiste à se placer sur le carrefour central de la zone urbaine considérée, à jeter un stylo en l’air en le faisant pivoter simultanément. La direction au sol indiquée par la tête du stylo correspond à l’axe urbain à enquêter. Si la direction du stylo est placée entre deux axes, l’enquêteur opte pour l’axe situé à la gauche de la tête du stylo (la gauche étant déterminée avec l’observateur « derrière le stylo »). Si les habitations ne sont pas situées sur des axes bien matérialisés ou sur des sentiers sinueux (bidonvilles, relief escarpé), l’enquêteur empruntera le sentier indiqué par le stylo et restera sur ce dernier peu importe l’orientation qu’il prend par la suite. Si, en suivant ce sentier, l’enquêteur rencontre un carrefour similaire à celui d’où il est parti, il réitérera la même opération (méthode du « stylo ») pour poursuivre son enquête. Une fois la rangée de

maisons enquêtée, l'observateur reviendra au premier carrefour pour faire un nouveau jet de stylo (si le nombre d'enquêtes requis pour la journée n'est pas satisfaisant). Si, lors d'un nouveau lancé, le stylo indique un axe déjà enquêté, l'enquêteur doit relancer le stylo. Si tous les axes ont été sélectionnés, l'enquêteur devra recommencer à zéro (en considérant tous les axes comme non enquêtés) en écartant les maisons qui ont déjà fait l'objet d'une enquête. Dans une concession, si plusieurs ménages cohabitent, la méthode du stylo est employée de nouveau pour sélectionner le ménage à enquêter. Une fois une direction choisie via la méthode du « stylo », l'opérateur prendra une table de chiffres aléatoires et les yeux fermés pointera au hasard son stylo sur la table : le chiffre indiqué correspond au rang de la maison depuis le carrefour à partir duquel commencer l'enquête (par exemple si le chiffre est 8, l'enquêteur ira directement à la 8^{ème} maison sur l'axe (côté gauche). A partir de cette maison, l'enquêteur investiguera dans toutes les maisons suivantes jusqu'à sortir de sa zone d'enquête. Si le chiffre obtenu est supérieur au nombre total de maisons, il soustraira ce nombre au chiffre obtenu autant de fois que nécessaire pour obtenir un chiffre inférieur à ce nombre. Si, au cours de l'enquête, l'ensemble des axes possibles a été sélectionné et que l'enquêteur doit revenir sur un axe déjà parcouru, il optera pour le côté droit de l'axe pour la détermination des foyers à enquêter.

Le questionnaire utilisé pour l'enquête ménage (Annexe III) a porté sur 3 parties essentielles à savoir, (i) des informations sociales et démographique, (ii) les habitudes alimentaires et les techniques culinaires des ménages et (iii) les facteurs de risque d'une potentielle infection suite à la consommation des crustacés.

2 5. Enquête auprès des vendeuses de crustacés

Au total cinquante sept vendeuses de crustacés sur les marchés d'Adjamé, de Dabou, de Koumassi, de Marcory, de Port Bouët, de Treichville et de Yopougon/ Siporex ont accepté de répondre à notre questionnaire (Annexe IV). Le questionnaire destiné aux vendeuses de crustacés a porté sur 3 parties essentielles à savoir, (i) informations sociales et démographiques, (ii) la provenance des crustacés et les facteurs de risques de contraction des infections à *Vibrio* et des infestations à *Paragonimus* et (iii) les types de crustacés vendus.

3. Recherche de *Vibrio*, de métacercaires de *Paragonimus* et celles d'autres trématodes dans les crustacés

3.1. Echantillonnage des crustacés sur les marchés

3.1.1. Taille des échantillons de crustacés pour la recherche de *Vibrio*

Le calcul de la taille des échantillons de crustacés pour la recherche de *Vibrio* a été fait en se basant sur les travaux réalisés au Maroc par **Cohen *et al.* (2007)** sur la recherche de *Vibrio* dans les produits de la pêche. Ces travaux ont montré une prévalence de contamination des crevettes de 5,7 %. Une erreur de 5%, une précision de 5 % et une puissance de 80 % sur cette prévalence, nécessitera un échantillon d'au moins 76 crustacés calculé par la formule (7). Vu la faible prévalence de *Vibrio*, nous avons décidé de prélever autant de crustacés que nous permettait notre chronogramme afin de maximiser nos chances de trouver des crustacés contaminés par *Vibrio*.

3.1.2. Taille des échantillons de crustacés pour la recherche de métacercaires de *Paragonimus* et celles d'autres trématodes

Le calcul de la taille des échantillons, effectué à partir de la formule 7, a été réalisé à partir de l'étude de Aka *et al.* (2009) à Lauzoua dans le sud-ouest de la Côte d'Ivoire sur l'infestation des crustacés par les métacercaires de *Paragonimus*. Cette étude a permis de trouver un taux d'infestation de 20 %. Une erreur de 5 % sur ce taux d'infestation nécessitera un nombre d'au moins 246 crustacés.

3.1.3. Technique de prélèvement et transport des crustacés

Les échantillons ont été prélevés dans les contenants de vente par les commerçantes elles-mêmes, de manière aléatoire et par choix raisonné c'est-à-dire de façon proportionnelle au nombre de vendeuses sur chaque marché. Un échantillon correspond à un crabe ou un tas de crevettes (en moyenne 10 crevettes). Chaque échantillon (crabe vivant ou un tas de crevettes mort) prélevé par la vendeuse a été mis dans un sachet Stomacher stérile puis étiqueté. Les échantillons ont été ensuite transportés dans une glacière contenant de la glace jusqu'au laboratoire de microbiologie du Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire (CSRS) pour être analysés.

Les prélèvements et les analyses des crustacés se sont déroulés de 2009 à 2010. Les prélèvements se sont effectués les matins entre 7 et 9 heures et lors de ces prélèvements, une fiche a été renseignée sur le type, le nombre de crustacés prélevés, la provenance (zone de pêche) et la température de vente des crustacés (Annexe V). La provenance des

crustacés est indiquée par les vendeuses. En moyenne, 15 échantillons de crustacés ont été prélevés et analysés par semaine.

3.1.4. Mesure de la température de vente des crustacés

Les températures auxquelles les crustacés sont vendus ont été mesurées directement dans les contenants de vente (paniers, cuvettes ou assiettes) à l'aide d'un multimètre. Pour ce faire, la sonde du multimètre a été introduite dans le contenant de vente des crustacés et la température s'est affichée directement sur l'écran de l'appareil. La mesure de la température permet d'apprécier le nombre de fois que les bactéries d'altération se multiplient dans les crustacés. La relation comparée entre la multiplication des bactéries d'altération (m) à une température quelconque (t) et celle à 0°C considérée comme la température de référence, a été établie par **Bremner *et al.* (1987)** et elle est libellée par la formule (8).

$$\sqrt{m} = 1 + 0,1 \times t \quad \text{Formule (8)}$$

De cette équation on déduit alors m , la multiplication des bactéries d'altération.

3.2. Recherche de *Vibrio* dans les crustacés

3.2.1. Préparation de la suspension-mère et des dilutions décimales

La méthode canadienne MFLP-37 relative à l'isolement et au dénombrement de *Vibrio* spp. (**Anonyme 4, 2006 b**) dans les fruits de mer a été utilisée pour la numération des *Vibrio* dans les crustacés en milieu liquide par la méthode du NPP (nombre le plus probable). La détermination du sexe des crevettes n'étant pas aisée, nous nous sommes limités uniquement à la détermination du sexe des crabes dans notre étude.

Ainsi, de manière aseptique, le sexe des crabes est déterminé, les échantillons (crabes et crevettes) sont broyés séparément (y compris la carapace pour les crabes) à l'aide d'un Stomacher, puis 25 g du broyat sont ajoutés à 225 mL d'eau peptonée stérile à 2 % de NaCl. Le mélange homogénéisé constitue la suspension-mère. Un volume de 1 mL de la suspension-mère est ajouté à 9 mL d'eau distillée stérile à 2 % de NaCl contenus dans un tube à essai et le tout est homogénéisé. La dilution 10^{-2} est ainsi obtenue. Ensuite 1 mL de la dilution 10^{-2} est ajouté à 9 mL d'eau distillée stérile à 2 % de NaCl contenu dans un autre tube à essai pour obtenir la dilution 10^{-3} . Des dilutions subséquentes sont ainsi réalisées jusqu'à la dilution 10^{-7} .

3.2.2. Dénombrement de *Vibrio*

Le dénombrement de *Vibrio* s'est fait en milieu liquide par la méthode du NPP (Nombre le Plus Probable). Ce dénombrement a consisté à réaliser des ensemencements de trois tubes à essai contenant chacun 10 mL d'eau peptonée alcaline stérile à 2 % de NaCl avec chacune des dilutions subséquentes réalisées auparavant avec les suspensions mères de chaque échantillon. L'incubation s'est faite à 37°C pendant 24 heures. Au bout de ce temps, la présence de trouble dans les tubes traduit un développement de microorganismes.

Le nombre de *Vibrio* est ensuite déterminé par la méthode de Mac Grady qui consiste à assigner à chaque résultat positif le chiffre 1 et à chaque résultat négatif le chiffre 0. Trois chiffres sont obtenus par dilution (à partir des 3 tubes ensemencés pour chaque dilution). Ces 3 chiffres sont ensuite additionnés, ce qui donnera un autre chiffre pour chaque série de dilutions. Ces derniers chiffres seront alors utilisés pour faire des combinaisons de 3 chiffres de la plus faible à la plus forte dilution. Parmi les combinaisons obtenues, la plus grande et si possible inférieure à 330 est retenue. La combinaison retenue correspond à un nombre n lu sur la table de Mac Grady (Annexe VI).

Le nombre N de germes par gramme d'échantillon est déterminé par la formule suivante:

$N=n/10^x$

Formule (9)

n : valeur du NPP lu dans la table de Mac Grady

10^x : dilution correspondant au 1^{er} chiffre de la combinaison retenue.

3.2.3. Isolement des *Vibrio*

A partir des bouillons utilisés pour le dénombrement par la méthode du NPP, un isolement sur milieu TCBS (Thiosulfate-Citrate-Bile-Saccharose, Bio-Rad, Marnes, la coquette) préalablement coulé en boîtes de Pétri a été effectué. Les boîtes de Pétri sont ensemencées par stries afin d'obtenir des colonies bien isolées. Après 24 h d'incubation à 37°C, les colonies jaunes et plates de 2 à 3 mm de diamètre présomptives de *Vibrio cholerae*, les colonies jaunes de grande taille présomptives de *V. alginolyticus*, les colonies jaunes ou translucides présomptives de *V. fluvialis* et de *V. vulnificus* et les colonies incolores à centre vert présomptives de *V. parahaemolyticus* isolées sur les boîtes de Pétri ont été retenues comme celles caractéristiques des *Vibrio*. Quatre colonies caractéristiques pour chaque espèce présomptive de *Vibrio* isolée sur chacune des boîtes de Pétri ont été

repiquées sur la gélose nutritive alcaline (GNA) à 2 % de NaCl (Biorad), puis incubées 24 h à 37°C pour l'obtention de souches pures.

3.2.4. Identification morphologique et biochimique

L'identification des souches isolées s'est faite par la recherche des caractères biochimiques et morphologiques des *Vibrio*. L'identification morphologique s'est faite sur les souches pures par la recherche du type de mobilité et du type de Gram. L'identification biochimique est réalisée sur les souches pures, par la recherche de l'oxydase, de la lysine décarboxylase, de l'ornithine décarboxylase, de l'uréase, de la tryptophanase, de la β -galactosidase et de l'utilisation des glucides (glucose, lactose et mannitol) (**Rodier et al., 1996**). L'ensemble des tests biochimiques et des tests morphologiques utilisés lors de l'identification de *Vibrio* sont résumés dans le tableau VI.

Tableau VI: Tests utilisés pour l'identification des souches de *Vibrio*

Tests morphologiques			
Caractère recherché	Milieu ou réactif	Réaction positive	Réaction négative
Mobilité	Bouillon cœur-cervelle	Mobilité polaire	Immobile ou autres types de mobilité
Type de Gram	Kit de Gram	Bacille Gram-	Bacille Gram+
Tests biochimiques			
Caractère recherché	Milieu ou réactif	Réaction positive	Réaction négative
Production d'oxydase	Bandelettes réactives	Coloration bleue ou violette	Incolore
Production d'uréase	Urée-Tryptophane	Coloration rouge après 24 h d'incubation à 37°C	Orange
Production de Tryptophanase	Urée-Tryptophane	Anneau rouge après 2 à 3 gouttes de réactif de Kovacs	Anneau orange
Fermentation du glucose	Kligler-Hajna	Culot jaune après 24 h d'incubation	Culot rouge
Utilisation du lactose	Kligler-Hajna	Pente jaune après 24h d'incubation	Pente rouge
Production de B-galactosidase	Disque d'ONPG	Coloration jaune après 1h d'incubation à 37°C	Incolore
Fermentation du mannitol	Mannitol-Mobilité	Coloration jaune après 24 h d'incubation à 37°C	Coloration rouge
Lysine décarboxylase	Lysine-fer	Culot violet	Culot jaune
Ornithine décarboxylase	Milieu liquide sans peptone de Falkow	Coloration violette	Coloration jaune

3.2.5. Identification des souches présomptives de *Vibrio* par galeries API 20 E

Des galeries API 20 E (BioMérieux, France) ont été utilisées pour confirmer l'identification des souches de *Vibrio* réalisée grâce aux tests morphologiques et biochimiques classiques. Ainsi, les souches ont été ensemencées dans les cupules ou les alvéoles des galeries API 20 E où sont dissous des substrats déshydratés. Les métabolites produits au cours des 24 heures d'incubation à 37°C ont été mis en évidence par des réactions colorées, spontanées ou révélées par addition de réactifs. La lecture de ces réactions a été effectuée à l'aide du tableau d'identification associé à la galerie, et le nom de la bactérie a été obtenu à l'aide du catalogue analytique et du logiciel APILAB.

3.2.6. Conservation des souches de *Vibrio*

Un volume de 1 mL de culture de *Vibrio* dans le milieu TSB à 2 % de NaCl de 6 à 12 heures, et 0,1 mL de glycérol stérile ont été mis dans des cryotubes stériles et conservés dans un congélateur à - 20°C. Une identification des souches isolées a ensuite été effectuée par biologie moléculaire à l'Institut Pasteur de Paris.

3.2.7. Caractérisation moléculaire des espèces de *Vibrio* identifiées par la galerie API 20 E

La caractérisation moléculaire des espèces de *Vibrio* identifiées par la galerie API 20 E s'est faite par la technique de la PCR (Polymerase Chain Reaction) par une confirmation des espèces de *Vibrio* identifiées par la galerie API 20 E suivie de la recherche de gènes codant pour la toxine cholérique de *V. cholerae* (*ctxA* et *ctxB*) et les hémolysines thermostables directes et thermostables liées de *V. parahaemolyticus* (*tdh* et *trh*). La PCR a consisté à l'extraction de l'ADN bactérien, à l'amplification d'une séquence spécifique du gène recherché et à la révélation par électrophorèse sur gel d'agarose de l'amplicon.

3.2.7.1. Extraction de l'ADN bactérien

Les souches de *Vibrio* conservées ont été cultivées sur gélose Marine Agar (DICO Laboratory) incubée à 37°C pendant 24 h. L'ADN a été extrait à partir des cultures de *Vibrio* de 24 heures avec le kit InstaGene Matrix (Bio Rad laboratories, Marnes La Coquette, France) selon les recommandations du fabricant. Pour ce faire, une anse pleine de colonies a été prélevée et triturée dans 1 mL d'eau physiologique tamponnée stérile préalablement distribuée dans les microtubes de 1,5 mL. Le mélange a été vortexé, puis

une centrifugation a été réalisée pendant 1 min à 12.000 trs / min et le surnageant a été éliminé. Ensuite, 200 µL de matrice InstaGene ont été ajoutés au culot et le tout a été mélangé par plusieurs pipetages avec un cône à large embout (cône bleu de 1000 µL) et incubé au bain-marie à 56° C pendant 30 min. Un vortexage à vitesse élevée du microtube a été effectué pendant 10 sec et le microtube a été placé dans un bloc chauffant à 100°C pendant 8 min. Un autre vortexage du microtube à vitesse élevée pendant 10 sec suivi d'une centrifugation à 12.000 trs / min pendant 3 min ont été réalisés. Enfin 1 µL de surnageant contenant l'ADN bactérien a été utilisé pour 50 µL de réaction de PCR.

3.2.7.2. Confirmation de l'identification des espèces de *Vibrio* par PCR

Dans la mesure où les souches des espèces *V. alginolyticus* et *V. parahaemolyticus* ne diffèrent que par l'utilisation du saccharose, les souches de *V. alginolyticus* sont donc systématiquement étudiées par la PCR spécifique de l'espèce *V. parahaemolyticus*. La confirmation des espèces de *V. parahaemolyticus* et de *V. alginolyticus* s'est donc faite par l'amplification des gènes *r72H* et *toxR*. L'amplification des gènes 16S/23S a servi à la confirmation des espèces de *V. cholerae* et celle des espèces de *V. vulnificus* a été réalisée par l'amplification du gène *hly*. Pour les différentes identifications, les amorces utilisées et les gènes recherchés sont regroupés dans le tableau VII.

Le mélange réactionnel pour les PCR est constitué d'1 µL de matrice d'ADN dilué (concentration de 0,1 à 0,2 µg/50 µL) et d'un mix PCR d'un volume de 49 µL pour un mélange réactionnel final de 50 µL et un contrôle du mix PCR est réalisé en ajoutant 1 µL d'eau distillée stérile (H₂O) au mix PCR.

Pour vérifier l'amplification des différents gènes recherchés, une réaction d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2 % a été réalisée avec 10 µL de produit d'amplification en présence de 2 µL de solution de dépôt (0,07% de bleu de bromophénol, 20 % de Ficoll). Après migration en tampon Tris-borate-EDTA (TBE), les produits d'amplification sont mis en évidence après coloration par le Bromure d'Éthidium (BET), agent qui s'intercale entre les bases de l'ADN et qui est fluorescent en lumière Ultra-Violette (UV). Leur taille est déterminée par rapport à l'ADN témoin et avec les bandes d'un marqueur de poids moléculaire (TriDye™ 100 bp DNA Ladder, Invitrogen) ayant migré dans les mêmes conditions.

Ainsi pour l'amplification du gène *r72H*, le mix PCR était constitué de 30,5 µL d'eau distillée stérile (H₂O), de 5 µL de tampon d'amplification 1X, de 3 µL de MgCl₂ à 1,5 mM, de 5 µL de solution de désoxy ribonucléotide triphosphate (dNTPs) à 800 µM soit

200 μM finaux pour chaque dNTP, de 2,5 μL de chaque amorce à 1 μM pour chaque amorce et de 0,5 μL de Taq DNA polymérase à 2,5 U/50 μL . Des contrôles internes sont également réalisés dont un témoin négatif avec 1 μL d'ADN d'une souche de *V. alginolyticus* et deux témoins positifs avec respectivement 1 μL d'ADN d'une souche de *V. parahaemolyticus* ayant un produit d'amplification "R72H" de 320 paires de base (pb) et 1 μL d'ADN d'une souche de *V. parahaemolyticus* ayant un produit d'amplification "r72H" de 387 paires de base (pb). La PCR a été réalisée par une dénaturation initiale à 94°C pendant 10 min, suivie de 35 cycles d'amplification. Chaque cycle consiste en une dénaturation à 94°C pendant 1 min, une hybridation à 60°C pendant 1 min, une polymérisation à 72°C pendant 1 min. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 10 min a été réalisée.

Concernant l'amplification du gène *toxR*, le mix PCR était constitué de 32,5 μL d'eau distillée stérile (H_2O), de 5 μL de tampon d'amplification sans MgCl_2 , de 4 μL de MgCl_2 à 2 mM, de 5 μL de solution de désoxy ribonucléotide triphosphate (dNTPs) à 800 μM soit 200 μM finaux pour chaque dNTP, de 1 μL de chaque amorce à 0.4 μM pour chaque amorce et de 0,5 μL de Taq DNA polymérase à 2,5 U/50 μL . Des contrôles internes sont également réalisés dont un témoin négatif avec 1 μL d'ADN d'une souche de *V. alginolyticus* et deux témoins positifs avec chacun 1 μL d'ADN d'une souche de *V. parahaemolyticus* ayant un produit d'amplification "*toxR*" de 368 paires de base (pb). La PCR a été réalisée par une dénaturation initiale à 96°C pendant 5 min, suivie de 20 cycles d'amplification. Chaque cycle consiste en une dénaturation à 94°C pendant 1 min, une hybridation à 63°C pendant 1,5 min, une polymérisation à 72°C pendant 1,5 min. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 7 min a été réalisée.

Concernant l'amplification des gènes 16S/23S, le mix PCR était constitué de 31,5 μL d'eau distillée stérile (H_2O), de 5 μL de tampon d'amplification 1X, de 5 μL de MgCl_2 à 2,5 mM, de 5 μL de solution de désoxy ribonucléotide triphosphate (dNTPs) à 800 μM soit 200 μM finaux pour chaque dNTP, d'1 μL de chaque amorce à 0,4 μM et de 0,5 μL de Taq DNA polymérase à 2,5 U/ 50 μL . Des contrôles internes sont également réalisés dont un témoin négatif avec 1 μL d'ADN d'une souche de *V. mimicus* et un témoin positif avec 1 μL d'ADN d'une souche de *V. cholerae*. La PCR a été réalisée par une dénaturation initiale à 94°C pendant 2 min, suivie de 30 cycles d'amplification. Chaque cycle consiste en une dénaturation à 94°C pendant 1 min, une hybridation à 60°C pendant 1 min, une polymérisation à 72°C pendant 1 min. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 10 min a été réalisée.

Enfin, pour l'amplification du gène *hly*, le mix PCR était constitué de 30,5 µL d'eau distillée stérile (H₂O), de 5 µL de tampon d'amplification 1X, de 5 µL de MgCl₂ à 2,5 mM, de 5 µL de solution de désoxy ribonucléotide triphosphate (dNTPs) à 800 mM soit 200 µM finaux pour chaque dNTP, de 1,5 µL de chaque amorce à 0,6 µM chacun et de 0,5 µL de Taq DNA polymérase à 2,5 U/50 µL. Des contrôles internes sont également réalisés dont un témoin négatif avec 1 µL d'ADN d'une souche de *V. cholerae* non-O1/non-O139 et un témoin positif avec 1 µL d'ADN d'une souche de *V. vulnificus*. La PCR a été réalisée par une dénaturation initiale à 94°C pendant 10 min, suivie de 40 cycles d'amplification. Chaque cycle consiste en une dénaturation à 94°C pendant 1 min, une hybridation à 68°C pendant 1 min, une polymérisation à 72°C pendant 1 min. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 10 min a été réalisée.

3.2.7.3. Sérotypage des souches de *Vibrio cholerae*

Il a consisté en un test d'agglutination sur lame avec une culture de 24 h sur GNA. Un test en eau physiologique a été réalisé pour vérifier que les souches ne sont pas auto-agglutinables. Les souches ont été testées par la suite avec les sérums anti-O1 et anti-O139. En présence d'agglutination avec le sérum anti-O1, la souche est une souche de *Vibrio cholerae* séro groupe O1 et en absence d'agglutination, la souche est une souche de *Vibrio cholerae* non O1. En présence d'agglutination avec le sérum anti-O139, la souche est une souche de *Vibrio cholerae* séro groupe O139 et en absence d'agglutination, la souche est une souche de *Vibrio cholerae* non O139.

3.2.7.4. Recherche de facteurs de pathogénicité chez les espèces de *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* et *V. cholerae*

Le pouvoir pathogène de *Vibrio cholerae* est lié à la présence des gènes *ctxA* et *ctxB* qui codent pour les sous-unités A et B de la toxine cholérique. Celui de *V. parahaemolyticus* est lié à la présence des gènes codant pour les hémolysines thermostables directes et thermostables liées (*tdh* et *trh*). Les souches de *V. alginolyticus* sont systématiquement étudiées pour la recherche des gènes *tdh/trh* du fait que les souches de *V. parahaemolyticus* et celles de *V. alginolyticus* ne diffèrent que par l'utilisation du saccharose.

La recherche de facteur de pathogénicité chez ces trois espèces de *Vibrio* s'est faite par l'amplification des gènes (*tdh* et *trh*) et des gènes *ctxA* et *ctxB*. Les amorces utilisées et les gènes recherchés sont regroupés dans le tableau VII.

Le mélange réactionnel pour les PCR est constitué aussi d'1 µL de matrice d'ADN dilué (concentration de 0,1 à 0,2 µg/50 µL) et d'un mix PCR d'un volume de 49 µL pour un mélange réactionnel final de 50 µL et un contrôle du mix PCR a aussi été réalisé en ajoutant 1 µL d'eau distillée stérile (H₂O) au mix PCR.

Pour l'amplification des gènes *tdh* et *trh*, le mix PCR était constitué de 28,5 µL d'eau distillée stérile (H₂O), de 5 µL de tampon d'amplification 1X, de 5 µL de MgCl₂ à 2,5 mM, de 5 µL de solution de désoxy ribonucléotide triphosphate (dNTPs) à 800 mM soit 200 µM finaux pour chaque dNTP, de 2,5 µL de chaque amorce à 1 µM pour chaque amorce et de 0,5 µL de Taq DNA polymérase à 2,5 U/50 µL. Des contrôles internes sont réalisés dont un témoin négatif avec 1 µL d'ADN d'une souche de *V. parahaemolyticus* *tdh* et *trh* négative et 1 µL d'ADN d'une souche de *V. parahaemolyticus* *tdh* et *trh* positive. La PCR a été réalisée par une dénaturation initiale à 94°C pendant 3 min, suivie de 30 cycles d'amplification. Chaque cycle consiste en une dénaturation à 94°C pendant 1 min, une hybridation à 58°C pendant 1 min et une polymérisation à 72°C pendant 1 min. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 10 min a été réalisée.

Concernant l'amplification des gènes *ctxA* et *ctxB*, le mix PCR était constitué de 33,5 µL d'eau distillée stérile (H₂O), de 5 µL de tampon d'amplification 1X, de 5 µL de solution de désoxy ribonucléotide triphosphate (dNTPs) soit 200 µM finaux pour chaque dNTP, de 2,5 µL de chaque amorce à 1 µM pour chaque primer et de 0,5 µL de Taq DNA polymérase à 2,5 U/50 µL. Des contrôles internes sont également réalisés dont un témoin négatif avec 1 µL d'ADN d'une souche de *V. cholerae* non-O1/non-O139 (*ctxA* négative) et un témoin positif avec 1 µL d'ADN d'une souche de *V. cholerae* O1 ou O139 (*ctxA* positive) ayant un produit d'amplification de 564 paires de base (pb).

La PCR a été réalisée par une dénaturation initiale à 95°C pendant 5 min, suivie de 25 cycles d'amplification. Chaque cycle consiste en une dénaturation à 95°C pendant 1 min, une hybridation à 60°C pendant 1 min, une polymérisation à 72°C pendant 1 min. Enfin, une élongation finale à 72°C pendant 10 min a été réalisée.

Tableau VII: Liste des amorces utilisées pour la caractérisation des souches de *Vibrio*

Gènes cibles	Amorces	Séquence (5-3)	Interprétation	Taille des fragments amplifiés	Références
16S/23S ISR	VC-F VCM-R	5'-TTA AGC STT TTC RCT GAG AAT G- 3' 5'-AGT CAC TTA ACC ATA CAA CCC G- 3'	Identification de l'espèce <i>V. cholerae</i>	295-310 pb	Chun <i>et al.</i>, 1999
<i>hly</i>	V _v -1 V _v -3	5'-CGC CGC TCA CTG GGG CAG TGG CTG- 3' 5'-CCA GCC GTT AAC CGA AAC ACC CGC- 3'	Identification de l'espèce <i>V. vulnificus</i>	388 pb	Brauns <i>et al.</i>, 1991
<i>r72H</i>	VP32 VP33	5'-CGA ATC CTT GAA CAT ACG CAG C- 3' 5'-TGC GAA TTC GAT AGG GTG TTA ACC-3'	Identification de l'espèce <i>V. parahaemolyticus</i>	320-387 pb	Lee <i>et al.</i>, 1995 ; Robert-Pillot <i>et al.</i>, 2002
<i>ToxR</i>	ToxR 4 ToxR 7	5'-GTC TTC TGA CGC AAT CGT TG- 3' 5'-ATA CGA GTG GTT GCT GTC ATG- 3'	Identification de l'espèce <i>V. parahaemolyticus</i>	368	Kim <i>et al.</i>, 1999
<i>ctxA</i>	CTX2 CTX3	5'-CGG GCA GAT TCT AGA CCT CCT G- 3' 5'-CGA TGA TCT TGG AGC ATT CCC AC- 3'	Sous-unité A de la toxine cholérique	564 pb	Fields <i>et al.</i>, 1992
<i>ctxB</i>	CTX7 CTX9B	5'-GGT TGC TTC TCA TCA TCG AAC CAC- 3' 5'-GAT ACA CAT AAT AGA ATT AAG GAT G- 3'	Sous-unité B de la toxine cholérique	460 pb	Olsvik <i>et al.</i>, 1993
<i>tdh</i>	L.tdh R.tdh	5'-GTA AAG GTC TCT GAC TTT TGG AC- 3' 5'-TGG AAT AGA ACC TTC ATC TTC ACC- 3'	Hémolysine TDH de <i>V. parahaemolyticus</i>	269 pb	Bej <i>et al.</i>, 1999
<i>trh</i>	L.trh R.trh	5'-TTG GCT TCG ATA TTT TCA GTA TCT- 3' 5'-CAT AAC AAA CAT ATG CCC ATT TCC G-3'	Hémolysine TRH de <i>V. parahaemolyticus</i>	500 pb	Bej <i>et al.</i>, 1999

pb : paires de bases

3.3. Recherche de métacercaires de *Paragonimus* et de métacercaires d'autres trématodes dans les crustacés

La recherche de métacercaires de *Paragonimus* sp. et de métacercaires d'autres trématodes a été effectuée selon la technique utilisée par **Aka et al. (2009)**. Cette technique a consisté à déterminer le sexe des crabes et à broyer les crustacés dans un moulin à viande. Le broyat a par la suite été mis dans une bouteille en plastique contenant un litre d'eau de robinet. L'ensemble a été soumis à une agitation manuelle pendant 3 minutes à la température de la pièce et le mélange a été mis à sédimenter pendant 10 minutes. Cette opération a été répétée plusieurs fois jusqu'à ce que le surnageant devienne clair. Le sédiment a alors été prélevé pour être examiné au microscope optique entre lame et lamelle à l'objectif x 10 puis x 40 pour rechercher les métacercaires qui sont des kystes sphériques. Les métacercaires retrouvées dans les crustacés ont été conservées au congélateur à -20°C dans des cryotubes contenant de l'éthanol à 70° selon la technique utilisée par **Doanh et al. (2007)**.

4. Détermination du risque d'infection à *Vibrio* lié à la consommation des crustacés par l'évaluation participative du risque

4.1. Modèle utilisé pour l'évaluation du risque

Le modèle que nous avons utilisé pour évaluer le risque d'infection à *Vibrio* lié à la consommation des crustacés est l'évaluation participative du risque (**Duraiappah et al., 2005**). Ce modèle est basé sur celui du *Codex Alimentarius* relatif à l'évaluation de risque (**Crepet, 2007**), auquel nous avons intégré la participation des consommateurs de crustacés par la réalisation de focus group discussions ou groupes de discussions et l'enquête ménage réalisée à Abidjan sur la consommation des crustacés.

Nous avons par ailleurs construit un arbre de défaillance (Figure 26) qui est un modèle schématique (**Vose, 2005**) qui nous aide à représenter de façon synthétique l'ensemble des combinaisons des événements qui peuvent conduire à la contraction d'infections à *Vibrio* liées à la consommation des crustacés.

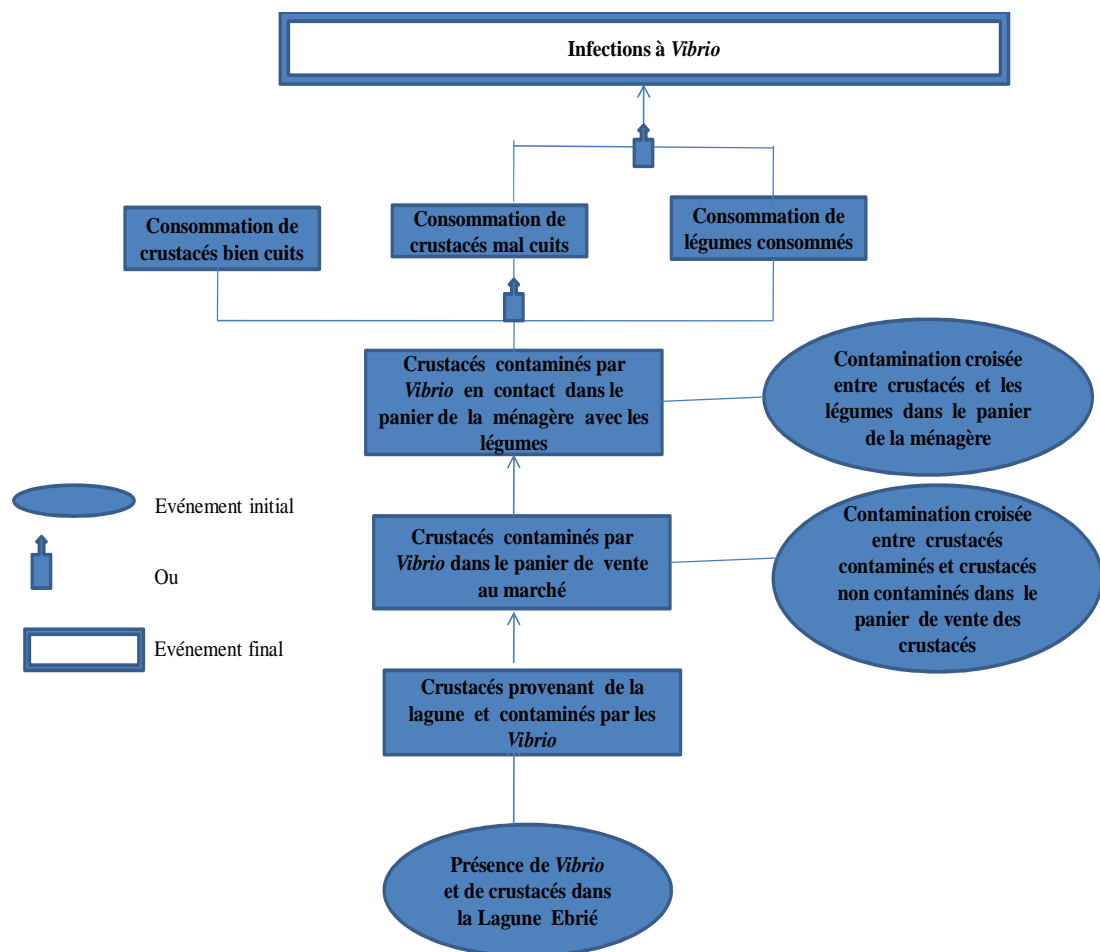


Figure 26 : Arbre de défaillance sur le risque de contraction des infections à *Vibrio* au niveau des ménages

4.2. Réalisation des « focus groups discussions » ou groupes de discussions

Sept groupes de discussions avec 6 ménagères et consommatrices de crustacés par groupe de discussion ont été réalisés à Abidjan. Au total 42 femmes ont participé à ces focus group qui ont eu lieu à Abobo-Baoulé (Abobo), Abobodoumé (Attécoubé), Marcory, Koumassi, Port-Bouët, Williamsville et Yopougon-Kouté. Les quartiers ont été choisis de façon aléatoire comme ceux qui ont servis à la réalisation de l'enquête ménage à Abidjan sur la consommation des crustacés. Avant la tenue de l'entretien avec les ménagères, l'ensemble des participants a été présenté (enquêteurs et interrogés). Les raisons de l'étude ont été données, la permission pour l'enregistrement a été demandée et obtenue, la liste des participants a été faite, les participants ont été placés de sorte à pouvoir faire l'enregistrement puis la tenue de l'interview a été expliquée. Le guide d'entretien était constitué de 13 questions (Annexe VII).

4.3. Evaluation du risque

4.3.1. Identification du danger

Pour identifier le danger (*Vibrio*) présent dans les crabes et les crevettes vendus sur les marchés d'Abidjan et de Dabou, nous avons d'abord recherché dans la littérature les germes pathogènes susceptibles de contaminer les crustacés. Ensuite, en prenant en compte les données existantes dans la littérature et en considérant le fait que ces germes peuvent avoir un effet néfaste sur la santé des consommateurs de crustacés, nous avons retenu les *Vibrio* comme germes associés aux crustacés pour lesquels il est intéressant de mener une évaluation des risques.

4.3.2. Evaluation de l'exposition au risque

Pour évaluer l'exposition au risque de consommation de crustacés contaminés par des souches de *Vibrio* au moment de l'achat, nous avons utilisé la modélisation stochastique (Pouillot *et al.*, 2002). Cette méthode qui a nécessité des distributions de probabilités pour représenter soit la variabilité, soit l'incertitude sur un paramètre, a permis de construire un modèle afin de déterminer la probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de l'achat (Nauta, 2001).

Le modèle global 1 qui nous a permis de déterminer cette probabilité journalière a été donc construit à partir d'une succession de modèles partiels, les variables de sortie à une étape servant potentiellement de variables d'entrée pour les étapes suivantes. Les différents modules, constituant les étapes du modèle, et qui établissent les relations entre

variables d'entrée et de sortie, ont été construits à partir des données sur la proportion des consommateurs de crustacés, sur le taux journalier de consommation des crustacés, sur la proportion des consommateurs de crabes, sur la proportion des consommateurs de crevettes, sur la prévalence des *Vibrio* dans les crabes et sur la prévalence des *Vibrio* dans les crevettes. La formule 10 présente le modèle global 1 et les modèles partiels qui le composent.

$$\text{Modèle 1: } P = P_1 T_1 (P_2 P_3 + P_4 P_5)$$

Formule (10)

P: Probabilité de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat

P_1 : Proportion des consommateurs de crustacés

T_1 : Taux journalier de consommation des crustacés

P_2 : Proportion des consommateurs des crabes

P_3 : Prévalence des *Vibrio* dans les crabes

P_4 : Proportion des consommateurs des crevettes

P_5 : Prévalence des *Vibrio* dans les crevettes

P est le modèle global et P_1, T_1, P_2, P_3, P_4 et P_5 sont les modèles partiels.

Une distribution Béta a été associée à 5 variables du modèle 1 qui sont la proportion des consommateurs de crustacés, la proportion des consommateurs de crabes, la proportion des consommateurs de crevettes, la prévalence des *Vibrio* dans les crabes et la prévalence des *Vibrio* dans les crevettes. En fait la distribution Béta est utilisée pour remplacer ces cinq variables pour avoir des distributions de probabilités puisque nous utilisons la méthode probabiliste. La distribution Béta est utilisée pour estimer la probabilité de succès p pour n indépendants et identiques essais lesquels produisent s succès. Les paramètres de chacune des 5 distributions Béta ont été calculés avec la formule 11

$$P = \text{Beta} (s+1, n-s+1)$$

Formule (11)

$s+1$ et $n-s+1$ sont les paramètres de la distribution Béta

s est le nombre de succès et n est le nombre d'échantillons

Avec les données du taux journalier de consommation des crustacés, nous avons réalisé à l'aide du logiciel Modelrisk 4.0, un bootstrap non paramétrique qui est un outil qui permet de calculer numériquement l'incertitude d'un ensemble de données de mesures par plusieurs reprises des résultats au hasard parmi l'ensemble des données.

La probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de l'achat a donc été déterminée à l'aide du logiciel Modelrisk 4.0 qui nous a permis de réaliser 5000 itérations (simulations) en faisant appel à un échantillonnage aléatoire de chaque distribution Béta et du bootstrap non paramétrique dans le modèle 1.

▪ Analyse de sensibilité du modèle 1

Une analyse de sensibilité du modèle 1 a été réalisée à l'aide du logiciel Modelrisk 4.0 pour savoir si l'un des paramètres ci-après influence la probabilité de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de l'achat. Ces paramètres sont la proportion des consommateurs de crustacés, la proportion des consommateurs de crabes, la proportion des consommateurs de crevettes, la prévalence des *Vibrio* dans les crabes, le taux journalier moyen de consommation des crustacés par ménage et la prévalence des *Vibrio* dans les crevettes.

4.3.3. Evaluation du rapport dose-effet et la caractérisation du risque

L'évaluation du rapport dose-effet qui est la probabilité d'infection à *Vibrio* liée à la consommation des crustacés et la caractérisation du risque qui la probabilité annuelle d'infection liée à de multiples expositions à *Vibrio* n'ont pas pu être déterminées parce que nous n'avons pas pu déterminer la dose de *Vibrio* ingérée par les consommateurs de crustacés. En effet, nous n'avons pas pu déterminer la charge résiduelle de *Vibrio* dans les crustacés après leur cuisson.

5. Recherche de la paragonimose chez les patients des CAT et chez les élèves des deux écoles primaires de Dabou

5.1. Echantillonnage des patients et des élèves

5.1.1. Calcul de la taille des échantillons de patients et des élèves

Le calcul de la taille des échantillons de patients enquêtés au niveau des centres antituberculeux de Treichville et d'Adjamé a été fait en se basant sur les travaux réalisés par **Aka et al. (2008 b)** qui ont trouvé une prévalence de 4 % de la paragonimose humaine.

Une erreur de 5 %, une précision de 5 % et une puissance de 80 % sur cette prévalence nécessitera un échantillon d'au moins 57 patients calculé par la formule (7).

Le calcul de la taille des échantillons d'élèves enquêtés au niveau des villages d'Allaba et de N'Gatty s'est aussi basé sur les travaux réalisés par **Aka et al. (2008 b)** sur la paragonimose humaine et la formule (7).

Vu la faible prévalence de la paragonimose et le taux de réponse, nous avons décidé d'inclure d'une part tous les patients qui allaient se présenter au centre antituberculeux pendant la période d'étude et d'autre part tous les élèves dont les parents donneront leur accord pour la participation de leur enfants à l'étude.

5.1.2. Critères d'inclusion des patients et des élèves

Les personnes suspectées d'être atteintes de tuberculose et d'âge supérieur ou égal à 5 ans, fréquentant les CAT de Treichville et d'Adjamé au moment de la réalisation de l'étude ont été retenues. Les parents des patients mineurs et les patients majeurs ont donné leur consentement éclairé écrit ou oral. Les élèves du CE1 au CM2 des écoles de N'Gatty et d'Allaba ont été inclus dans l'étude après l'obtention du consentement éclairé écrit de leurs parents.

5.1.3. Critères de non inclusion des patients et des élèves

Les patients des CAT âgés de moins de cinq ans et les élèves du CP1 et du CP2 des deux écoles primaires n'ont pas été inclus dans l'étude à cause de leur très jeune âge qui ne leur permet pas de répondre à notre questionnaire.

5.1.4. Prélèvement des échantillons des patients et des élèves et collecte de données sur leur consommation de crustacés

Avec l'accord des directeurs des deux centres antituberculeux et l'aide de certains de leurs collaborateurs, chaque patient, après obtention de son consentement éclairé verbal ou écrit (Annexe VIII), a reçu un numéro d'identification unique (ID), trois contenants en plastique stérile pour recueillir ses expectorations et un autre contenant pour la collecte de ses selles. Chaque patient a été invité à apporter ses trois échantillons de crachats à raison d'un le premier jour et deux autres le deuxième jour, avec son échantillon de selles. Tous les échantillons ont été prélevés de mars à juin 2009. Chaque patient a été invité par ailleurs à répondre à un questionnaire (Annexe IX) le premier jour de l'étude. Le questionnaire administré par notre équipe se composait de trois parties. La première

section contenait des informations sur la démographie (âge et sexe) et les variables socio-économiques (type de maison habitée, nombre de personnes dans la maison). La seconde portait sur les symptômes de la paragonimose humaine (toux de plus de trois semaines, expectorations sanglantes, douleurs thoraciques). La troisième section portait sur les facteurs de risque de la paragonimose (habitudes alimentaires et culinaires liées à la consommation de crabes et de la viande de porc et l'approvisionnement en eau).

Concernant les élèves, nous avons sollicité et obtenu l'accord de l'inspectrice de l'enseignement primaire de Dabou et des directeurs des écoles primaires d'Allaba et de N'Gatty. Nous avons donné à chaque élève, après l'obtention du consentement écrit de ses parents (Annexe VIII), un contenant en plastique pour la collecte de ses selles le jour de l'étude et chaque élève a reçu un numéro d'identification unique (ID). Les élèves ont été invités par la suite à répondre individuellement à notre questionnaire sur leur consommation de crustacés. Le questionnaire a été administré par notre équipe à laquelle nous avons associé les enseignants. Tous les échantillons ont été prélevés en mai 2010. Le questionnaire soumis aux élèves se composait également de trois parties (Annexe X).

5.2. Recherche du Bacille de Koch (BK) dans les crachats des patients

La recherche de BK s'est effectuée aux laboratoires de bactériologie des centres antituberculeux de Treichville et d'Adjamé sur les trois échantillons de crachats recueillis chez chaque patient. Cette recherche a consisté à étaler les expectorations des patients sur des lames porte objets, à fixer les frottis grâce à la flamme d'un bec Bunsen, à les colorer avec l'auramine et à examiner les lames au microscope à fluorescence avec le grossissement 400 (objectif 40x, oculaire 10x). Les BK apparaissent jaunes fluorescents sur fond rouge (Biofarma, 2003).

5.3. Recherche d'œufs de *Paragonimus* et d'autres parasites dans les crachats et les selles des patients

✓ Crachats

La recherche d'œufs de *Paragonimus* a été réalisée sur les prélèvements de crachats au laboratoire de parasitologie de l'UFR des Sciences médicales d'Abidjan. Cette recherche s'est effectuée par étalement du culot des crachats après centrifugation. Pour obtenir une expectoration fluide, chaque échantillon a été dilué dans une solution de soude à 4 % (1 volume d'expectoration pour trois volumes de NaOH). Le diluât a été ensuite placé dans un tube conique pendant 20 minutes avant d'être centrifugé dans une centrifugeuse à 1500

tours/minute pendant 3 minutes. Le culot résultant de cette dernière opération a été enfin récupéré pour être examiné au microscope optique entre lame et lamelle à l'objectif x 10 puis x 40 (Aka *et al.*, 2008 b). Les éventuels œufs de parasites retrouvés sont ainsi identifiés grâce aux fiches techniques de l'OMS (Annexe XI).

✓ Selles

L'échantillon de selles recueilli chez chaque patient le deuxième jour de récolte des crachats a été utilisé pour rechercher des œufs de *Paragonimus*, des œufs de trématodes autres que *Paragonimus* et d'autres parasites pathogènes pour l'homme. La technique de Ritchie a été utilisée pour cette recherche. Ainsi 1 g de selles a été dilué dans de l'eau formolée à 10 %, le tout a été alors tamisé et de l'éther a été ajouté au tiers. Le mélange, après agitation, est centrifugé à une vitesse de 1500 trs/min pendant 3 minutes. Le culot est examiné au microscope avec les grossissements 10 fois et 40 fois (Ritchie, 1948). Les protozoaires et les helminthes observés grâce à cette technique de concentration, ont été identifiés grâce aux fiches techniques de l'OMS (Annexe XI), en se basant sur les caractères morphologiques et morphométriques de leurs œufs ou de leurs kystes (OMS, 1982).

5.4. Recherche d'œufs de *Paragonimus* et d'autres parasites pathogènes dans les selles des élèves

La recherche d'œufs de *Paragonimus* et d'autres helminthes dans les selles des élèves a été réalisée à l'aide de la technique de Kato-Katz (Katz *et al.*, 1972). Ensuite un prélèvement d'un gramme de selles a été conservé dans 10 mL d'une solution de SAF (acide formique acétate de sodium) (Marti et Escher, 1990) afin de rechercher aussi par la méthode d'éther-concentration des œufs de *Paragonimus*, d'autres helminthes et des protozoaires intestinaux (Utzingen *et al.*, 2010).

La méthode de Kato-Katz a consisté d'abord à réaliser un frottis épais à partir de 41,7 mg de matières fécales de chaque échantillon de selles prélevées à l'aide d'une spatule et déposées dans un moule placé sur une lame porte-objet. Ensuite, à recouvrir les selles par un rectangle de cellophane de 2 x 3 cm préalablement immergé pendant 24 heures dans une solution constituée de 100 mL de glycérine, 100 mL d'eau distillée et 1 mL de vert de malachite à 3 %. La préparation a été par la suite retournée et écrasée sur du papier journal jusqu'à ce que les matières fécales se soient étalées de façon uniforme entre lame et cellophane et laissée à l'air ambiant pendant 30 à 40 min pour éclaircissement. Les œufs de

Paragonimus et des autres helminthes ont été recherchés au microscope au grossissement x100. Les helminthes ont été identifiés grâce aux fiches techniques de l'OMS (Annexe XI), en se basant sur les caractères morphologiques et morphométriques de leurs œufs (OMS, 1982). Après la technique de Kato-Katz, les selles qui avaient été conservées dans du SAF, ont été analysées par la méthode d'éther-concentration. Cette technique a consisté d'abord à écraser et à homogénéiser les selles contenues dans la solution de SAF de 10 mL avant de transvaser le tout dans un entonnoir avec une compresse. Ensuite, le filtrat a été recueilli dans un tube conique puis centrifugé à 1500 trs/min pendant 1 minute. Le surnageant a été rejeté puis 7 mL de 0,85 % NaCl et 3 mL de diéthyl éther ont été ajoutés au culot. Le tube conique a été bouché et le tout a été homogénéisé avant d'être centrifugé à nouveau à 2000 trs/min pendant 5 minutes (Utzinger et al., 2010). Le surnageant a été rejeté et les helminthes et les protozoaires ont été recherchés dans le culot au microscope optique entre lame et lamelle à l'objectif x 10, puis x 40. Ils ont été identifiés grâce aux fiches techniques de l'OMS (Annexe XI), en se basant sur les caractères morphologiques et morphométriques de leurs œufs ou de leurs kystes (OMS, 1982).

6. Analyse statistique

La double saisie des données a été effectuée et elles ont été analysées avec le logiciel SPSS.10 (IBM Corporation ; Somers, NY, USA). Six bases de données ont été créées sur, l'enquête ménage à Abidjan, l'enquête auprès des vendeuses, la recherche de *Vibrio* dans les crustacés, la recherche de métacercaires de *Paragonimus* dans les crustacés, la recherche de paragonimose chez les patients des CAT et la recherche de paragonimose chez les élèves. Les pourcentages et les prévalences ont été déterminés en rapportant l'effectif considéré à l'effectif total.

Quatre modèles linéaires généralisés de type binomial ont été ajustés avec le logiciel R 2.10.1 pour savoir si la contamination des crustacés par les *Vibrio* était liée à leur genre (modèle 2), à leur marché d'achat (modèle 3), à leur sexe (modèle 4) et à leur origine de provenance (modèle 5).

Modèle 2 <- glm (CONTAMINATION~GENRE, famille=binomiale)

Modèle 2 : $\log (p/1-p) = \alpha_2 \text{ Genre} + \beta_2$

Modèle 3 <- glm (CONTAMINATION~MARCHE, famille=binomiale)

Modèle 3 : $\log (p/1-p) = \alpha_3 \text{ Marché} + \beta_3$

Modèle 4 <- glm (CONTAMINATION~SEXE, famille=binomiale)

Modèle 4 : $\log (p/1-p) = \alpha_4 \text{ Sexe} + \beta_4$

Modèle 5 < -glm (CONTAMINATION~ORIGINE, famille=binomiale)

Modèle 5 : $\log(p/1-p) = \alpha_5 \text{ Sexe} + \beta_5$

$\alpha_2, \alpha_3, \alpha_4$ et α_5 sont des coefficients

$\beta_2, \beta_3, \beta_4$ et β_5 sont des constantes

Trois autres modèles linéaires généralisés de type binomial ont été ajustés avec le logiciel R 2.10.1 pour savoir si l'infestation des crustacés par les métacercaires de trématodes était liée à leur marché d'achat (modèle 6), à leur origine de provenance (modèle 7) et à leur sexe (modèle 8).

Modèle 6 <- glm (INFESTATION~MARCHE, famille=binomiale)

Modèle 6: $\log(p/1-p) = \alpha_6 \text{ Genre} + \beta_6$

Modèle 7 < -glm (INFESTATION~ORIGINE, famille=binomiale)

Modèle 7: $\log(p/1-p) = \alpha_7 \text{ Genre} + \beta_7$

Modèle 8 <- glm (INFESTATION~SEXE, famille=binomiale)

Modèle 8: $\log(p/1-p) = \alpha_8 \text{ Genre} + \beta_8$

α_6, α_7 et α_8 sont des coefficients

β_6, β_7 et β_8 sont des constantes.

Le Bootstrap non paramétrique, les distributions Béta que nous avons utilisées dans le modèle 1 et les itérations (simulations) de notre modèle ont été réalisés grâce au logiciel ModelRisk 4.0. Les discussions de groupe ont été transcrites sur Word puis transférées sur le logiciel MAXQDA. Des codes ont été élaborés et transférés sur Word pour les analyses. Le test de khi deux a été utilisé pour voir si l'infection des patients des CAT par le bacille tuberculeux était liée à leur sexe. Ce test a été également utilisé pour voir si l'infestation des patients des deux centres antituberculeux et des deux écoles primaires par les protozoaires et les helminthes intestinaux était liée à leur sexe. Les intervalles de confiance ont été calculés avec le logiciel STATA. 10. Le risque relatif (RR) qui permet d'identifier les patients de la paragonimose parmi ceux qui consultent pour la tuberculose a été calculé à l'aide de la formule suivante :

$RR = \{a/(a+b)\} / \{c/(c+d)\}$	Formule (14)
----------------------------------	---------------------

où “a” est le nombre de patients atteints à la fois de la paragonimose et de la tuberculose, “b” le nombre de patients atteints uniquement de la tuberculose, “c” le nombre de patients atteints uniquement de la paragonimose et “d” le nombre de patients ne souffrant d'aucune de ces deux affections.

TROISIEME PARTIE : RESULTATS ET DISCUSSION

I. Potentiels facteurs de risques d'infections à *Vibrio* liés aux traitements des crustacés au cours de la vente et à la consommation des crustacés au niveau des ménages

1. Résultats

1.1. Potentiels facteurs de risques d'infections à *Vibrio* liés à la consommation des crustacés

1.1.1. Description des ménages et de leurs habitudes et techniques culinaires

Dans l'enquête auprès des 120 ménages, 96,7 % des répondants étaient des femmes contre 3,3 % qui étaient des hommes. Le niveau d'instruction de la plupart des répondants était l'école secondaire (38,3 %). Le nombre moyen de personnes dans les ménages était de 7,5 avec un intervalle allant d'une personne à 24 personnes par ménage. La plupart des répondants vivaient dans des maisons en bandes. Quatre vingt neuf virgule deux pourcents (89,2 %) des ménages déclaraient consommer les crustacés sous la forme bouillie en sauce. Le temps de cuisson des crustacés dans les ménages variait de 5 minutes à plus d'une heure. Dans 64,2 % des ménages, les crustacés étaient cuits pendant plus d'une heure tandis que 21,7 %, 2,5 %, 2,5 % et 6,8 % des ménages les cuisaient respectivement à des temps compris entre 45 et 60 min, entre 30 et 45 min, entre 15 et 30 min, et entre 5 et 15 min. La moitié d'un crustacé est consommée par personne dans 43,3 % des ménages. L'enquête a montré que 11,7 % des ménages mangeaient les crustacés tous les jours (7 fois par semaine) contre 45,8 % des ménages qui les consommaient occasionnellement et 42,5 % qui les mangeaient rarement (Tableau VIII).

Tableau VIII : Caractéristiques socio-démographiques des ménages et leurs habitudes et techniques culinaires (n = 120)

Caractéristiques	Effectifs (%)
Sexe du répondant	
Femme	116 (96,7)
Homme	4 (3,3)
Niveau d'étude du répondant	
Pas d'études	31 (25,8)
Ecole primaire	30 (25,0)
Ecole secondaire	46 (38,3)
Université	13 (10,8)
Habitat du ménage	
Maison en bandes	50 (41,7)
Cour commune	37 (30,8)
Villa	27 (22,5)
Immeuble	5 (4,2)
Maison en bois	1 (0,8)
Forme de cuisson des crustacés	
Bouillie	107 (89,2)
Frite	13 (10,8)
Fréquence de consommation des crustacés	
Tous les jours (7 fois par semaine)	14 (11,7)
Occasionnellement (~une fois chaque mois)	55 (45,8)
Rarement (~une fois par an)	51 (42,5)
Quantité de crustacés consommée par personne	
La moitié d'un crabe plat (39 g)	52 (43,3)
Un crabe plat entier (78 g)	7 (5,8)
Deux crabes plats (156 g)	6 (5)
Trois crabes plats (234 g)	4 (3,3)
Un tiers d'un kg de crevettes (333,3 g)	3 (2,5)
Un crabe poilu (106 g)	1 (0,8)
Cinq crevettes (85 g)	1 (0,8)
Temps de cuisson des crustacés	
5-15 min	8 (6,8)
15-30 min	3 (2,5)
30-45 min	3 (2,5)
45-60 min	26 (21,7)
Plus de 60 min	77 (64,2)
Inconnu	3 (2,5)

1.1.2. Crustacés les plus consommés au niveau des ménages

Tous les ménages enquêtés avaient au moins consommé une fois des crustacés. L'enquête a permis de constater que 114 ménages sur les 120 enquêtés consommaient plus les crabes (crabes plats et crabes poilus) et que 6 ménages sur les 120 enquêtés consommaient plus les crevettes. Les crabes du genre *Callinectes* (crabes plats) étaient plus consommés dans 89,2 % des ménages, avec 82,5 % de ménages les achetant vivants et 6,7 % les achetant morts. Les crabes *Cardisoma* (crabes poilus) et les petites crevettes étaient consommés respectivement par 5,8 % et 5 % des ménages (Figure 27).

1.1.3. Contact entre les crustacés et les autres aliments dans le panier de la ménagère

A la question de savoir s'il y a un contact direct entre les crustacés et les autres aliments dans le panier de la ménagère, 45,8 % des ménages ont répondu par l'affirmative tandis que 54,2 % disaient le contraire.

1. 2. Symptômes d'intoxication alimentaire observés au sein des ménages suite à la consommation des crustacés

L'eau d'adduction (fournie par le réseau national de distribution d'eau) était la principale source d'approvisionnement en eau des ménages (99,2 %). De tous les ménages enquêtés, seulement 7,5 % déclaraient avoir eu des symptômes d'intoxication alimentaire suite à la consommation de crustacés. Aucun des ménages interrogés ne connaissait la paragonimose humaine mais 98,3 % d'entre eux connaissaient le choléra. Le tableau IX donne le pourcentage de ménages connaissant la paragonimose et le choléra, mais aussi le pourcentage de ménages ayant eu des symptômes d'intoxication alimentaires liés à la consommation des crustacés.

1.3. Potentiels facteurs de risques d'infections à *Vibrio* liés aux traitements des crustacés

1.3.1. Mode de traitement des crustacés avant leur vente

La majorité des vendeuses (91,2 %) ne rinçaient pas les crustacés avant de les vendre pendant que 8,8% les rinçaient.

1.3.2. Durée de vente des crustacés

Parmi les vendeuses de crustacés interrogées, 50,9 % vendaient leurs crustacés d'un même lot (panier de crustacés) en un jour, 40,3 % les vendaient en deux jours, 5,3 % et 3,5 % les vendaient respectivement en trois et quatre jours. La figure 28 montre le pourcentage des vendeuses de crustacés en fonction du délai de vente.

1.3.3. Contenant de vente des crustacés

La plupart des vendeuses vendaient les crustacés dans les cuvettes et les paniers. En effet, 40,3 % des vendeuses les vendaient dans des cuvettes et 38,6 % les vendaient dans des paniers. La figure 29 montre le pourcentage des vendeuses de crustacés en fonction du mode de stockage des crustacés.

1.3.4. Eléments en contact avec les crustacés lors de leur vente

Soixante dix virgule deux pourcent (70,2 %) des vendeuses vendaient leur crustacés sans glace ni feuilles, 19,3 % les vendaient avec des feuilles qu'elles utilisaient pour les couvrir et 10,5 % des vendeuses les vendaient avec de la glace pour les conserver. La figure 30 montre le pourcentage des vendeuses de crustacés mettant des éléments en contact avec les crustacés lors de la vente.

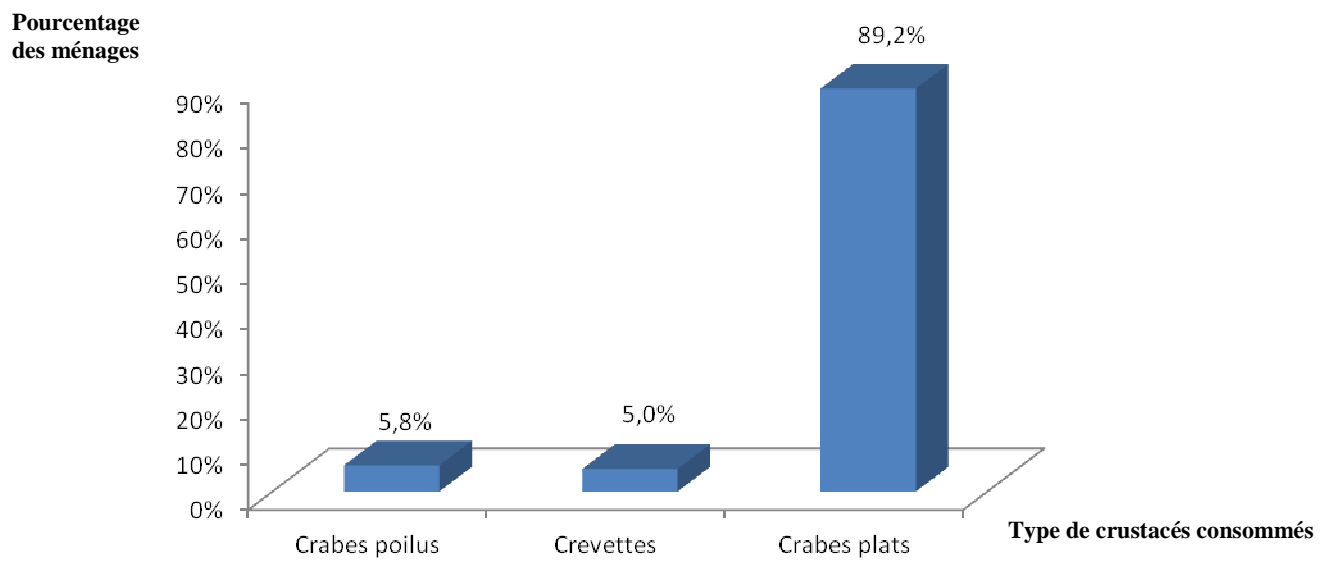


Figure 27: Crustacés les plus consommés par les ménages

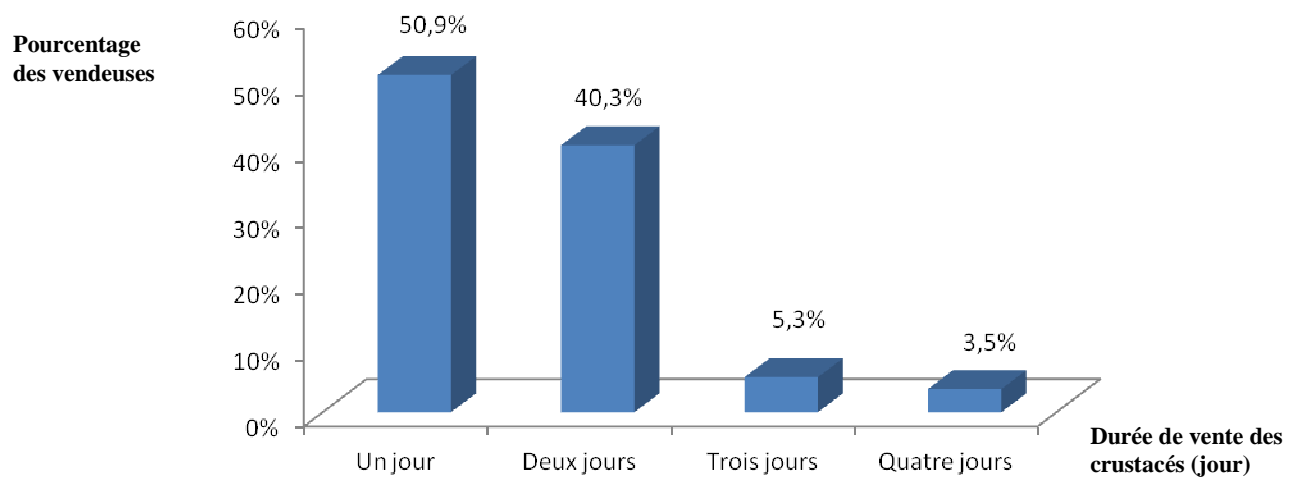


Figure 28: Pourcentage des vendeuses de crustacés en fonction du délai de vente

Tableau IX: Connaissance du choléra et de la paragonimose par les ménages et symptômes d'intoxication alimentaire liés à la consommation des crustacés au sein de ces ménages (n = 120)

Caractéristiques	Effectifs (%)
Source d'approvisionnement en eau	
Eau de robinet (fournie par le réseau national)	119 (99,2)
Eau vendue dans la rue	1 (0,8)
Connaissance du choléra	
Non	2 (1,6)
Oui	118 (98,3)
Connaissance de la paragonimose	
Non	120 (100)
Oui	0 (0)
Symptômes d'intoxication alimentaire liés à la consommation de crustacés	
Aucun symptôme	111 (92,5)
Présence de symptômes	9 (7,5)
Diarrhée	3 (2,5)
Maux de ventre	3 (2,5)
Angine	1 (0,8)
Allergie	1 (0,8)
Maux d'oreille	1 (0,8)

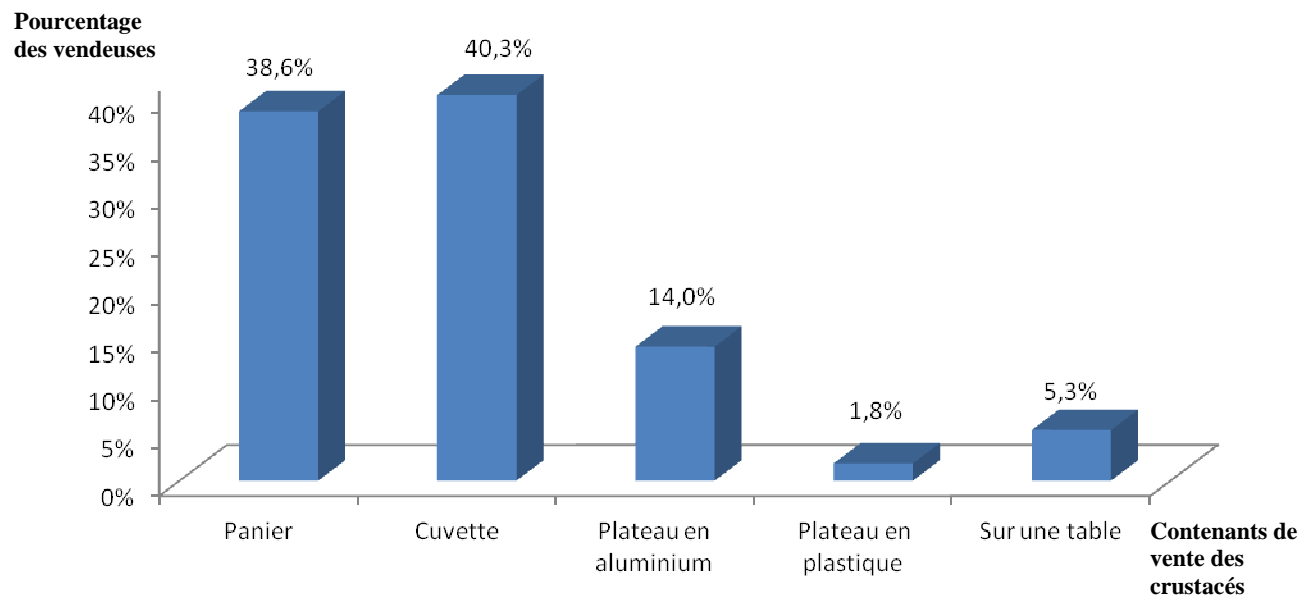


Figure 29: Pourcentage des vendeuses de crustacés en fonction du mode de stockage des crustacés

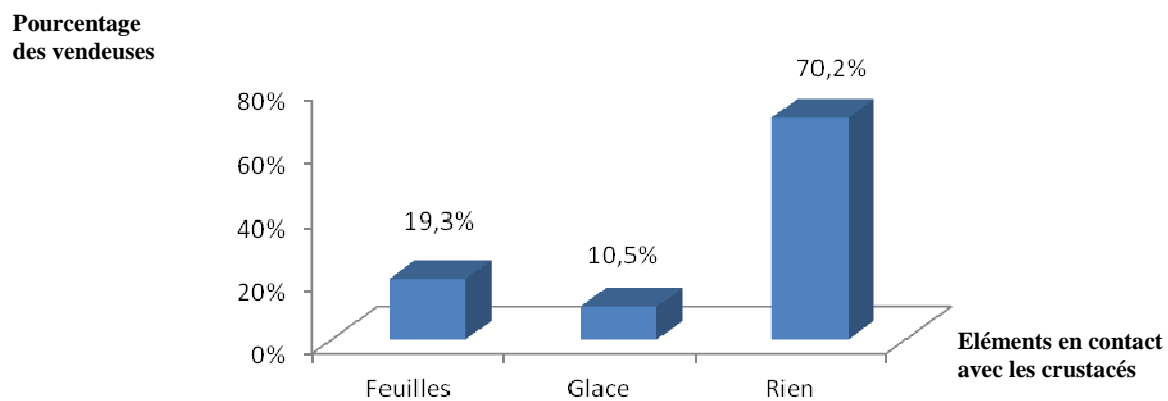


Figure 30: Pourcentage des vendeuses de crustacés mettant des éléments en contact avec les crustacés lors de la vente

2. Discussion

L'enquête auprès des ménages a révélé que les crabes et les crevettes sont consommés par la plupart des ménages et que des symptômes d'intoxication alimentaire suite à la consommation des crustacés, ont été parfois observés. Ces symptômes (diarrhée, maux d'estomac et douleurs abdominales) sont peu spécifiques, ils peuvent être causés par des souches de *Vibrio parahaemolyticus* et de *Vibrio cholerae* non O1; non O139 mais aussi par un certain nombre de pathogènes autres que les souches de *Vibrio*. Ces symptômes pourraient également être dus à la consommation d'aliments autres que les crustacés.

Différentes étapes ont été identifiées comme particulièrement importantes dans l'exposition des ménages à des infections à *Vibrio* liées à la consommation des crustacés, i) la phase de post-récolte (conditions de stockage), ii) le contact des crustacés avec les autres aliments dans le panier de la ménagère, par rapport à une contamination croisée, iii) les pratiques culinaires dans les ménages, par rapport à un report de contamination, iv) la fréquence de consommation et la quantité de crustacés consommée. En ce qui concerne la première étape, nous avons observé que le traitement des crustacés et leur méthode de vente sur les marchés locaux étaient propices à la croissance des *Vibrio*. La plupart des vendeuses (70,2 %), vendaient les crustacés sans glace, ce qui suppose un risque de multiplication des bactéries dont des *Vibrio* dans ces crustacés. Les crevettes, vendues mortes, devraient être maintenues en permanence en présence de glace lors de leur vente, mais ce n'était pas ce que nous avons observé sur les marchés étudiés. Il est concevable de noter que si, pendant la journée, la température augmente après la fonte des morceaux de glace, il en résulterait une croissance des microorganismes déjà présents dans les crustacés. Dans leur étude sur la qualité des crabes plats appartenant à l'espèce *Callinectes amnicola*, **Koussémon et al. (2008)** avaient fait remarquer que la température de vente des fruits de mer sur les marchés locaux (entre 25,5 et 26,5 ° C) favoriserait la prolifération des germes d'altération dans les crustacés.

Par ailleurs, la majorité des vendeuses (91,2 %) ne rinçaient pas les crustacés avant de les vendre, pourtant le rinçage des crustacés pourrait contribuer à une réduction du niveau de contamination des crustacés. Pour ce qui est du contact des crustacés avec les autres aliments dans le panier de la ménagère, 45,8 % des ménages affirment que lors de l'achat des crustacés, ils sont en contact avec les autres aliments dans le panier. Ce contact entre les crustacés et les autres aliments pourrait entraîner une contamination de certains légumes (qui sont consommés crus) par des germes dont les *Vibrio*.

Concernant les pratiques culinaires, 7,5 % des ménages ont déclaré avoir eu des symptômes d'intoxication alimentaire après consommation des crustacés. Ce faible pourcentage est susceptible d'être expliqué par le fait que la plupart des ménages (96,7 %) consomment les crustacés dans des sauces, ce qui nécessite un long temps de cuisson à une température élevée susceptible de détruire les *Vibrio* (Cohen et Karib, 2007). Les infections à *Vibrio* sont généralement acquises par la consommation de crustacés contaminés crus ou peu cuits. Les symptômes liés à la consommation des crustacés sous forme bouillie en sauce, signalée au niveau des ménages, pourraient être expliqués par un report de contamination des crustacés après la cuisson. Ces symptômes pourraient aussi être expliqués par une contamination croisée entre les crustacés et les légumes ou être simplement dus à la consommation d'autres aliments.

Le temps de cuisson est un point critique dans la prévention des infections à *Vibrio*, comme l'ont effectivement démontré Blake *et al.* (1980). Selon ces auteurs, certaines souches de *V. cholerae* 01 survivraient jusqu'à 8 min à l'ébullition et jusqu'à 25 min à l'étuvage dans des crabes naturellement contaminés. Enfin, concernant la fréquence de consommation et la quantité de crustacés consommée, 11,7 % des ménages ont signalé une consommation quotidienne de crustacés et 43,3 % consomment la moitié d'un crustacé par jour. Cette fréquence et cette quantité de consommation des crustacés au niveau des ménages sont de potentiels facteurs de risque d'infection à *Vibrio*.

Conclusion partielle

Les conditions et la durée de vente des crustacés, le contact des crustacés avec les autres aliments dans le panier de certaines ménagères, la consommation journalière des crustacés par certains ménages, la courte durée de cuisson des crustacés et la consommation de la moitié d'un crabe plat par personne au sein de certains ménages sont de potentiels facteurs de risques d'infections à *Vibrio* liés à la consommation des crustacés.

II. Présence de *Vibrio* dans les crustacés vendus sur les principaux marchés d'Abidjan et de Dabou

1. Résultats

1.1. Prévalence de la contamination des crustacés par *Vibrio*

Au total, 322 échantillons de crustacés (150 crabes plats, 152 lots de crevettes et 20 crabes poilus), ont été prélevés pour la recherche de *Vibrio*. Ainsi, sur les 322 échantillons de crustacés analysés, 25 étaient contaminés par *Vibrio*, soit une prévalence de 7,8 %.

L'analyse bactériologique a révélé une contamination par *Vibrio* des crustacés appartenant aux genres *Penaeus* (petites crevettes) et *Callinectes* (crabes plats) avec des prévalences respectives de 14,3 % et 6,0 %. Le tableau X donne le pourcentage de contamination des crustacés par *Vibrio* en fonction de leur genre. Un modèle linéaire généralisé de type binomial ajusté avec le logiciel R 2.10.1 au niveau de la variable genre (modèle 2) en prenant en compte uniquement les genres *Callinectes* et *Penaeus*, a permis de montrer que la contamination des crustacés par *Vibrio* est liée au genre *Penaeus* ($P < 0,005$).

1.2. Contamination des crustacés par *Vibrio* en fonction du marché de prélèvement

Les échantillons contaminés par *Vibrio* proviennent de tous les 7 marchés de prélèvement avec des prévalences de contamination comprises entre 2,3 % et 15,6 %. Le tableau XI donne le pourcentage de contamination des crustacés par *Vibrio* en fonction de leur marché de prélèvement. Le modèle linéaire généralisé de type binomial ajusté avec le logiciel R 2.10.1 au niveau de la variable marché de prélèvement (modèle 3) a permis de montrer que la contamination des crustacés n'est pas liée au marché de prélèvement des crustacés ($P > 0,005$).

Tableau X: Pourcentage de contamination des crustacés par *Vibrio* en fonction du genre

Genres de crustacés	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons contaminés	Pourcentage de contamination (%) [95 % IC]
Crevettes <i>Penaeus</i>	112	16	14,3 [8,4-22,2]
Crabes <i>Callinectes</i>	150	9	6,0 [2,8-11,1]
Crevettes <i>Macrobrachium</i>	40	0	0
Crabes <i>Cardisoma</i>	20	0	0
Total	322	25	7,8 [5,1-11,2]

IC: intervalle de confiance

Tableau XI: Pourcentage de contamination des crustacés par *Vibrio* en fonction du marché de prélèvement

Villes	Marchés	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons contaminés	Pourcentage de contamination (%) [95 % IC]
Abidjan	Treichville	45	7	15,6 [6,5-29,5]
	Port Bouët	29	3	10,3 [2,2-27,4]
	Koumassi	50	5	10,0 [3,3-21,8]
	Adjamé	34	3	8,8 [1,8-23,7]
	Siporex	75	2	2,7 [0,3-9,3]
	Marcory	44	1	2,3 [0,1-12,0]
Dabou	Dabou	45	4	8,9 [2,5-21,2]
	Total	322	25	7,8 [5,1-11,2]

IC : intervalle de confiance

1.3. Température moyenne de prélèvement des crustacés et charge en *Vibrio*

La température moyenne des crustacés au moment de leur prélèvement variait de 14, 8 °C (crevettes) à 26, 8°C (crabes plats). Le nombre moyen de *Vibrio* dans les crevettes *Penaeus* et les crabes *Callinectes* était respectivement de 10^6 UFC/g (6,27 log UFC/g) et 10^6 UFC/g (6,26 log UFC/g). Le tableau XII donne la température moyenne de prélèvement des crustacés et leur charge en *Vibrio*.

1.4. Contamination des crustacés par *Vibrio* en fonction du sexe des crabes plats

La contamination des crustacés en fonction de leur sexe a été examinée uniquement avec les crabes plats (*Callinectes*) parce qu'aucun crabe poilu (*Cardisoma armatum*) n'a été retrouvé contaminé par *Vibrio* et que le sexe des échantillons de crevette n'a pas pu être déterminé du fait que notre échantillon de crevette est constitué en moyenne de 10 crevettes (mâle et femelle). Ainsi, sur les 150 (80 mâles et 70 femelles) crabes plats analysés, 6 mâles étaient contaminés (prévalence 7,5 %) et 3 femelles étaient aussi contaminées (prévalence de 4,3 %). Le tableau XIII donne la prévalence de contamination des crabes plats par *Vibrio* en fonction de leur sexe.

Le modèle linéaire généralisé de type binomial ajusté avec le logiciel R 2.10.1 au niveau de la variable sexe (modèle 4) a permis de montrer que la contamination des crabes plats n'est pas liée au sexe.

1.5. Contamination des crustacés par *Vibrio* selon la provenance

Les échantillons contaminés par *Vibrio* proviennent de cinq localités (Blokauss à Abidjan, Bassam, Grand Lahou, Dabou et Adiaké) avec des prévalences de contamination comprises entre 6,8 % et 33,3 %. Le tableau XIV donne le pourcentage de contamination des crustacés par *Vibrio* en fonction de la provenance.

Le modèle linéaire généralisé de type binomial ajusté avec le logiciel R 2.10.1 au niveau de la variable origine (modèle 5) en prenant en compte uniquement les cinq localités de provenance des crustacés contaminés, a permis de montrer que la contamination des crustacés n'est pas liée à ces 5 localités ($P > 0,005$).

1.6. Espèces de *Vibrio* identifiées des crustacés par PCR

La PCR a permis d'identifier 25 souches de *Vibrio* constituées par les espèces *V. cholerae* non O1; non O139, *V. parahaemolyticus* et *V. alginolyticus* qui était l'espèce prédominante. Le tableau XV donne le résultat de l'identification des espèces de *Vibrio* par PCR. Les figures 31 et 33 montrent respectivement un profil d'identification de *V. cholerae* par la recherche du gène 16S/32S et un profil d'identification de *V. parahaemolyticus* par la recherche du gène *toxR*.

1.7. Espèces de *Vibrio* identifiées en fonction du type de crustacés

Sur les 25 souches de *Vibrio* isolées des crabes plats appartenant au genre *Callinectes* et des petites crevettes appartenant au genre *Penaeus*, 40 % appartiennent à l'espèce *V. alginolyticus*, 36 % à l'espèce *V. parahaemolyticus* et 24 % à l'espèce *V. cholerae* non O1; non O139. Le tableau XVI donne le pourcentage d'identification des *Vibrio* en fonction du type de crustacés.

1.8. Absence de gènes de virulence dans les espèces de *Vibrio cholerae*, *Vibrio alginolyticus* et *Vibrio parahaemolyticus* identifiées par PCR

Les gènes codant pour des facteurs de virulence majeure, la toxine cholérique de *V. cholerae* (*ctxA* et *ctxB*) et les hémolysines thermostables directes et thermostables liées de *V. parahaemolyticus* (*tdh* et *trh*) n'ont pas été détectés dans les souches de *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus* que nous avons caractérisées par PCR. La recherche des gènes (*tdh* et *trh*) chez *V. alginolyticus* s'est avérée aussi négative. Le tableau XVII donne le résultat de la recherche de gènes de virulence chez *V. cholerae*, *V. alginolyticus* et *V. parahaemolyticus*. Les figures 32 et 34 montrent respectivement un profil de recherche des gènes de pathogénicité *ctxA* et *ctxB* pour *V. cholerae* et un profil de recherche des gènes *tdh* et *trh* de *V. parahaemolyticus*.

Tableau XII : Température moyenne de prélèvement et charge des crustacés en *Vibrio*

Type de crustacés	Température* moyenne (°C)	Facteur de multiplication**	Nombre moyen de <i>Vibrio</i> (log UFC/g)
Crabes <i>Callinectes</i>	26,8 ± 1,6	14	6,26 ± 0,50
Crabes <i>Cardisoma</i>	26,4 ± 0,7	13	0
Crevettes <i>Macrobrachium</i>	14,8 ± 6,8	6	0
Crevettes <i>Penaeus</i>	14,8 ± 6,8	6	6,27 ± 0,98

* Température moyenne des crustacés dans le contenant de vente

** Facteur de multiplication des bactéries d'altération dans les crustacés au prélèvement

Tableau XIII: Prévalence de contamination des crabes plats par *Vibrio* en fonction de leur sexe

Sexe	Effectif de crabes analysés	Effectif de crabes infectés	Pourcentage de crabes plats infectés (%) [95 % IC]
Mâle	80	6	7,5 [2,8-15,6]
Femelle	70	3	4,3 [2,3-15,8]
Total	150	9	6,0 [3,7-12,7]

IC : intervalle de confiance

Tableau XIV: Pourcentage de contamination des crustacés par *Vibrio* en fonction de la provenance

Provenances	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons contaminés	Pourcentage de contamination (%)[95 % IC]
Blokauss	3	1	33,3 [0,84- 90,6]
Bassam	6	1	16,7 [0,4- 64,12]
Grand Lahou	57	6	10,5 [3,9-21,5]
Dabou	156	14	9,0 [6,4-16,8]
Adiaké	44	3	6,8 [3,8-24,5]
Koumassi	24	0	0,0
Jacqueville	23	0	0,0
Tiassalé	3	0	0,0
Toukouzou	6	0	0,0
Total	322	25	7,8 [6,4;13]

IC: intervalle de confiance

Tableau XV: Liste des espèces de *Vibrio* identifiées par PCR

Numéros de souches	Gènes cibles recherchés par PCR				Espèces identifiées
	<i>r72H</i>	<i>toxR</i>	<i>hly</i>	<i>16S/32S</i>	
1	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
2	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
3			-	+	<i>V. cholerae</i> non O1; non O139
4			-	+	<i>V. cholerae</i> non O1; non O139
5	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
6	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
7	+	+			<i>V. parahaemolyticus</i>
8	+	+			<i>V. parahaemolyticus</i>
9	+	-			<i>V. parahaemolyticus</i>
10	+	+			<i>V. parahaemolyticus</i>
11	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
12	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
13	+	+			<i>V. parahaemolyticus</i>
14	+	+			<i>V. parahaemolyticus</i>
15	+	+			<i>V. parahaemolyticus</i>
16	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
17	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
18	+	+			<i>V. parahaemolyticus</i>
19			-	+	<i>V. cholerae</i> non O1; non O139
20			-	+	<i>V. cholerae</i> non O1; non O139
21			-	+	<i>V. cholerae</i> non O1; non O139
22	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
23	-	-			<i>V. alginolyticus</i>
24			-	+	<i>V. cholerae</i> non O1; non O139
25	+	+			<i>V. parahaemolyticus</i>

- +: présence du gène
- -: absence du gène

Tableau XVI: Pourcentage d'identification des *Vibrio* en fonction du type de crustacés

Espèces de <i>Vibrio</i> isolées	Nombre de souches isolées des crabes <i>Callinectes</i> (%)	Nombre de souches isolées des crevettes <i>Penaeus</i> (%)	Total de souches isolées (%)
<i>V. alginolyticus</i>	6 (60)	4 (40)	10 (40)
<i>V. parahaemolyticus</i>	2 (22,2)	7 (77,8)	9 (36)
<i>V. cholerae</i> non O1; non O139	1(16,7)	5 (83,3)	6 (24)
Total	9 (36)	16 (64)	25 (100)

Tableau XVII: Espèces de *Vibrio* ne possédant pas les gènes codant pour la toxine cholérique et pour les hémolysines

Espèces identifiées par PCR	Gènes de virulence recherchés par PCR			
	<i>tdh</i>	<i>trh</i>	<i>ctxA</i>	<i>ctxB</i>
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. cholerae</i> non O1; non O139			-	-
<i>V. cholerae</i> non O1; non O139			-	-
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		
<i>V. cholerae</i> non O1; non O139			-	-
<i>V. cholerae</i> non O1; non O139			-	-
<i>V. cholerae</i> non O1; non O139			-	-
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. alginolyticus</i>	-	-		
<i>V. cholerae</i> non O1; non O139			-	-
<i>V. parahaemolyticus</i>	-	-		

▪ -: absence du gène

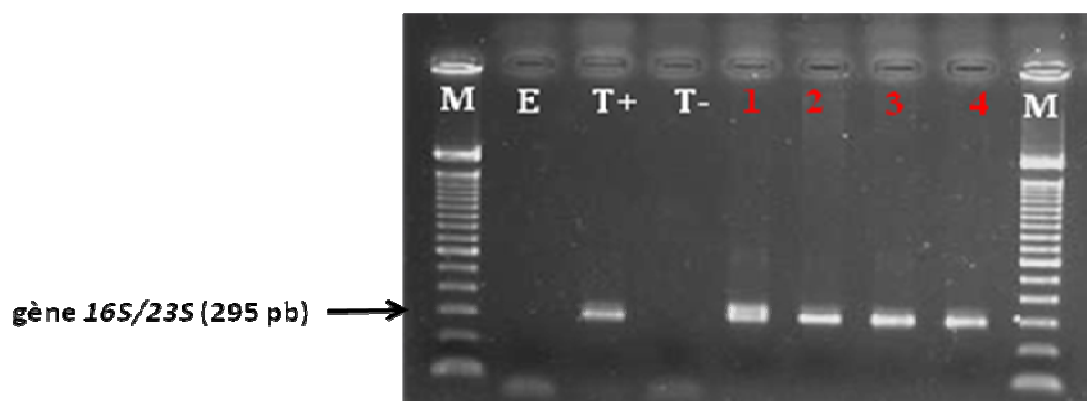


Figure 31: Confirmation de l'identification de 4 souches de *Vibrio cholerae* par la recherche du gène *16S/23S*

M : Marqueur de poids moléculaire (100 pb DNA Ladder, Invitrogen) ; E : Eau; T+: Témoin positif (*Vibrio cholerae* contenant le gène *16S/23S*) ; T- : Témoin négatif (*V. mimicus* ne contenant pas le gène *16S/23S*) ; 1, 2, 3 et 4: 4 souches de *Vibrio cholerae* identifiées par galerie API et caractérisées par PCR

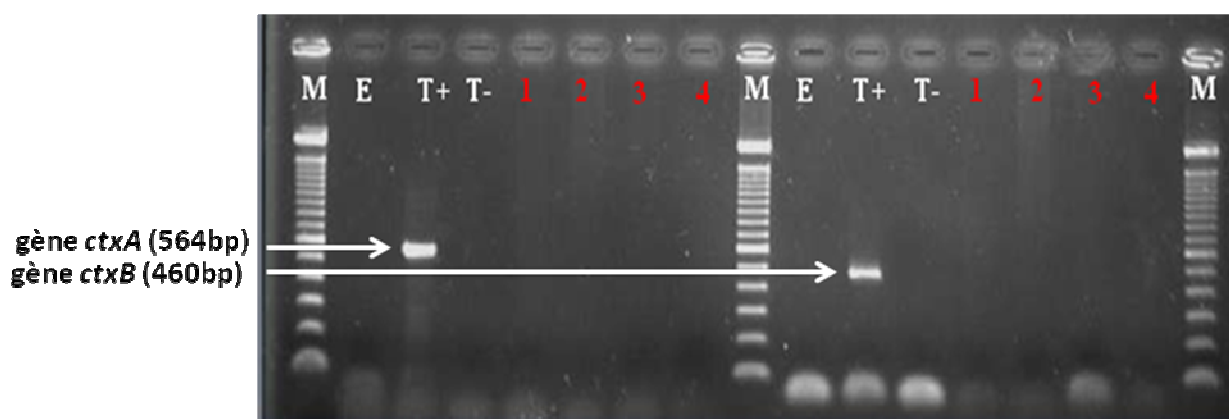


Figure 32: Profil montrant l'absence des gènes de pathogénicité *ctxA* et *ctxB* chez 4 souches de *Vibrio cholerae*

M: Marqueur de poids moléculaire (100 pb DNA Ladder, Invitrogen) ; E : Eau ; T+: Témoin positif (*Vibrio cholerae* contenant le gène *ctxA*) ; T+: Témoin positif (*Vibrio cholerae* contenant le gène *ctxB*); T-: Témoin négatif (*V. mimicus* ne contenant pas les gènes *ctxA* et *ctxB*); 1, 2, 3 et 4: 4 souches de *Vibrio cholerae* caractérisées par PCR

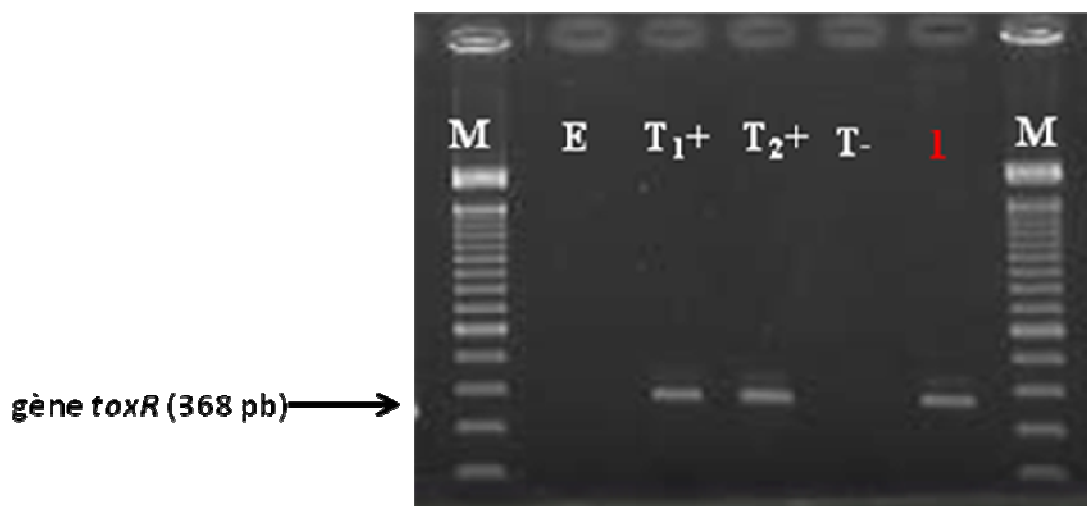


Figure 33: Confirmation de l'identification de *V. parahaemolyticus* par la recherche du gène *toxR*

M: Marqueur de poids moléculaire (100 pb DNA Ladder, Invitrogen) ; E : Eau; T1+: Témoins positif (*V. parahaemolyticus* contenant le gène *toxR*), T2+: Témoin positif (*V. parahaemolyticus* contenant le gène *toxR*) ; T-: Témoin négatif (*V. alginolyticus* ne contenant pas le gène *toxR*) ; 1: 1 souche de *Vibrio parahaemolyticus* identifiée par galerie API et caractérisée par PCR

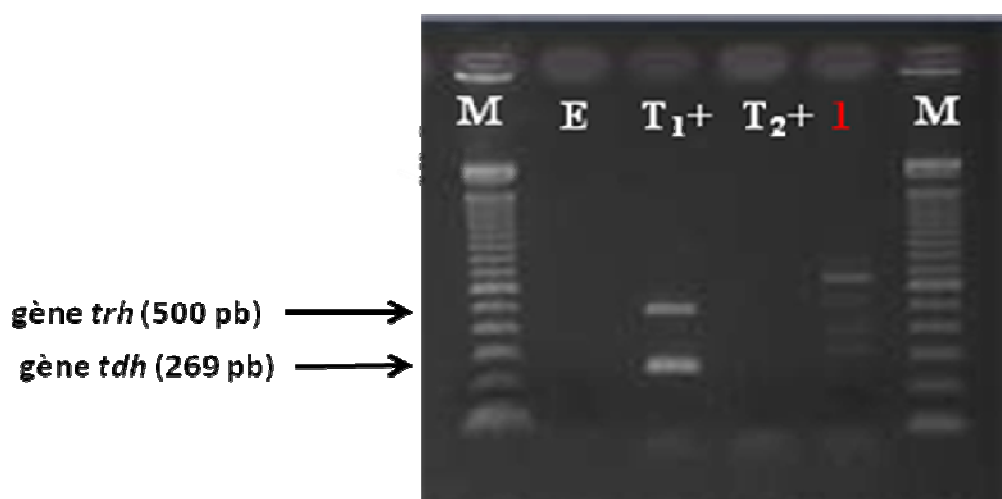


Figure 34: Profil montrant l'absence des gènes de pathogénicité *tdh* et *trh* chez une souche de *Vibrio parahaemolyticus*

M : Marqueur de poids moléculaire (100 pb DNA Ladder, Invitrogen) ; E : Eau ; T1+ : Témoin positif (*V. parahaemolyticus* contenant les gènes *tdh* et *trh*), T2+ : Témoin négatif (*V. parahaemolyticus* ne contenant pas les gènes *tdh* et *trh*) ; 1: espèce de *Vibrio parahaemolyticus* caractérisée par PCR

2. Discussion

La recherche de *Vibrio* dans les 322 échantillons de crustacés (crabes et crevettes) analysés a révélé une prévalence de 7,8 % de *Vibrio* avec des prévalences de 14,3 % et de 6,0 % de *Vibrio* respectivement chez les crevettes *Peneaus* et chez les crabes *Callinectes*. La prévalence des crevettes est plus élevée que celle observée dans une étude effectuée à Casablanca, au Maroc qui était de 5,7 % (**Cohen et Karib, 2007**).

Les 25 souches de *Vibrio* identifiées comprennent trois espèces dont *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, et *V. cholerae* non O1 ; non O139 avec une prédominance de *V. alginolyticus* (40% de prévalence). Les gènes codant pour des facteurs de virulence majeure, la toxine cholérique de *V. cholerae* (*ctxA* et *ctxB*) et les hémolysines thermostables directes et thermostables liées de *V. parahaemolyticus* (*tdh* et *trh*) n'ont pas été détectés dans les souches isolées au cours de notre étude. **Cohen et Karib (2007)** ont aussi identifié 25 souches de *Vibrio* dans les produits de pêche dont *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, et *V. cholerae* non O1 ; non O139 avec une prédominance de *V. alginolyticus* beaucoup plus élevée (72% de prévalence). Ils n'ont également pas détecté les gènes codant pour la toxine cholérique de *V. cholerae* et les gènes codant pour les hémolysines thermostables de *V. parahaemolyticus*. **Tiekoura et al. (2010)**, après avoir caractérisé 30 souches de *V. cholerae* non O1 ; non O139 à partir des eaux de la lagune de Grand Lahou (Côte d'Ivoire) par PCR ont trouvé que ces souches étaient aussi négatives pour le gène *ctxA*.

La présence de *V. cholerae* dans les échantillons de crustacés analysés pourrait être expliquée par la capacité de cette espèce à adhérer et à coloniser les coquilles des crustacés; ce qui facilite sa survie en milieu aquatique (**Castro-Rosas et Escartin, 2002**). La présence de *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, et *V. cholerae* non O1; non O139 dans les crustacés suppose que ces espèces sont également présentes à l'état libre dans la lagune Ebrié qui est un lieu de pêche des crustacés analysés. En effet, selon **Farama et al. (2008)**, la concentration initiale en vibrions dans les aliments lors de la récolte serait reliée à la quantité de vibrions dans l'eau. Plusieurs auteurs ont signalé la présence de *Vibrio* dans le milieu marin et dans les eaux estuariennes côtières de Côte d'Ivoire (**Kouassi et al., 1992 ; Tiekoura et al., 2010**). Dans les étangs du centre piscicole de Layo en Côte d'Ivoire, des *V. cholerae* non O1; non O139 ont été isolés du tube digestif d'un alevin de silure appartenant à l'espèce *Heteobranchus longifilis* (**Adingra, 1997**).

Par ailleurs, notre étude montre que les bactéries d'altération se multiplient dans les crabes plats 14 fois plus à la température de 26,8°C que si ces crabes plats étaient

conservés à 0°C, et 13 fois plus dans les crabes poilus à la température de 26,4 °C que si ces crabes poilus étaient conservés à 0°C. Dans leur étude sur la qualité des crabes plats appartenant à l'espèce *Callinectes amnicola*, **Koussémon et al. (2008)** avaient fait remarquer que la température de vente des fruits de mer sur les marchés locaux (entre 25,5 et 26,5 °C) favoriserait la prolifération des germes d'altération dans les crustacés.

Bien que les gènes codant pour la toxine cholérique n'aient pas été détectés dans nos d'échantillons, nous pouvons affirmer sur la base de nos résultats, que la consommation crue ou insuffisamment cuits des crustacés vendus sur les marchés d'Abidjan et de Dabou, ne représenterait pas de risque de contraction du choléra. Cependant, nous ne pouvons pas conclure que les espèces de *V. cholerae* non O1; non O139 que nous avons isolées, ne sont pas potentiellement pathogènes et ne représentent pas un risque pour la santé humaine. La bactérie *Vibrio cholerae* non O1; non O139 a été associée principalement à des cas sporadiques de diarrhées et d'infections extra-intestinales en Inde (**Bhanumathi et al., 2003**). Toute personne au contact de la mer ou consommant ses produits crus ou peu cuits est susceptible de développer une infection à vibrions, mais les personnes immunodéprimées représentent la population la plus sensible (**Farama et al., 2008**). En effet, environ 70 % des souches *V. cholerae* non-O1/non-O139 possèdent une capsule polysaccharidique, constituée entièrement de sucres qui augmente la capacité des bactéries à résister à la phagocytose et à provoquer des septicémies chez les sujets immunodéprimés (**Zhang et Austin, 2005; Cohen et al., 2007 ; Saka et al., 2008**).

Conclusion partielle

La recherche de *Vibrio* dans les 322 crustacés (crabes et crevettes) a révélé une prévalence de *Vibrio* de 7,8 %. L'identification par PCR des 25 souches de *Vibrio* isolées des crustacés a montré que les crustacés étaient contaminés par *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus* et *V. cholerae* non O1 ; non O139, avec une prédominance de *V. alginolyticus* (40% de prévalence). La recherche dans les souches de *V. parahaemolyticus*, *V. alginolyticus* et de *V. cholerae* non O1/non O139 que nous avons isolées, de gènes codant pour des facteurs de virulence majeure, la toxine cholérique de *V. cholerae* (*ctxA* et *ctxB*) et les hémolysines thermostables directes et thermostables liées de *V. parahaemolyticus* (*tdh* et *trh*) s'est avérée négative. Même si aucun des facteurs de virulence recherchés n'a été trouvé dans cette étude, il est utile de maintenir la vigilance en contrôlant régulièrement les souches de *V. parahaemolyticus* et de *V. cholerae* isolées des fruits de mer et de la lagune Ebrié.

III: Présence de métacercaires de trématodes dans les crustacés vendus sur les principaux marchés d'Abidjan et de Dabou

1. Résultats

1.1. Prévalence de l'infestation des crustacés par les métacercaires de trématodes

Au total, 272 échantillons de crustacés (221 crabes plats, 18 crabes poilus et 33 lots de crevettes), ont été prélevés pour la recherche de métacercaires de *Paragonimus* mais la présente étude n'a pas permis d'en trouver. Elle a cependant montré que seulement les crabes étaient infestés par des métacercaires de trématodes autres que *Paragonimus*. La figure 35 montre la photographie d'une métacercaire de trématode retrouvée dans un crabe. Aucune métacercaire de trématodes n'a été retrouvée chez les crevettes. Au total, sur les 272 crustacés analysés, 32 crabes étaient infestés par des métacercaires de trématodes, soit une prévalence de 11,8 %. Les prévalences d'infestation des crabes *Callinectes* et de ceux appartenant au genre *Cardisoma* sont respectivement de 13,6 % et de 11,1 %. Le tableau XVIII donne le pourcentage d'infestation des crustacés par les trématodes en fonction de leur genre.

1.2. Contamination des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction du marché de prélèvement

Les échantillons contaminés par les métacercaires de trématodes proviennent de tous les marchés de prélèvement avec des prévalences comprises entre 3,4 % et 25 %. Le tableau XIX donne le pourcentage d'infestation des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction du marché de prélèvement

Un modèle linéaire généralisé de type binomial ajusté avec le logiciel R 2.10.1 (modèle 6) a permis de montrer que la contamination des crabes est liée de façon significative ($P < 0,05$) aux marchés de Port-Bouët, de Siporex et de Treichville (respectivement $P = 0,04$, $P = 0,02$ et $P = 0,03$).

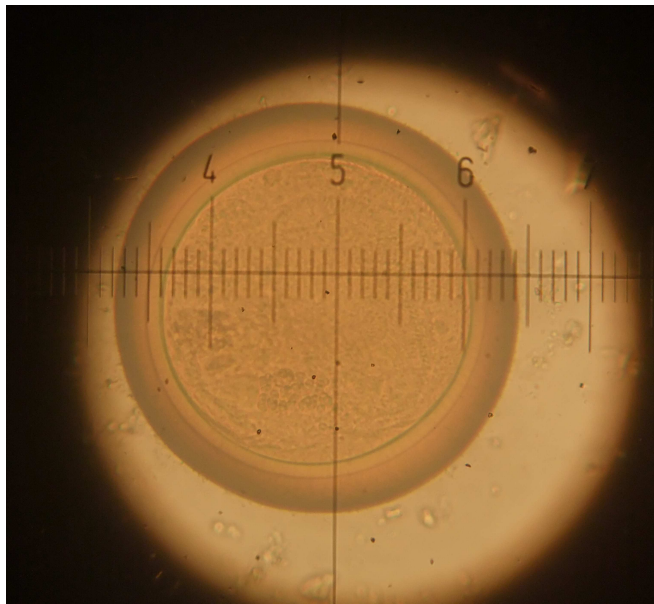


Figure 35: Photographie d'une métacercarie de trématode retrouvée dans un crabe

Tableau XVIII: Pourcentage d'infestation des crustacés par les trématodes en fonction de leur genre

Genres de crustacés	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons contaminés	Pourcentage de contamination (%) [95 % IC]
Crabes <i>Callinectes</i>	221	30	13,6 [9,3-18, 8]
Crabes <i>Cardisoma</i>	18	2	11,1 [1,4-34,7]
Crevettes <i>Penaeus</i>	30	0	0,0
Crevettes <i>Macrobrachium</i>	3	0	0,0
Total	272	32	11, 8 [8,2-16,2]

IC: intervalle de confiance

Tableau XIX: Pourcentage d'infestation des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction du marché de prélèvement

Villes	Marchés	Nombre d'échantillons analysés	Nombre d'échantillons contaminés	Pourcentage de contamination (%) [95 % IC]
Abidjan	Adjamé	32	8	25,0 [11,5-43,4]
	Marcory	43	7	16,3 [6,8-30,7]
	Koumassi	49	5	10,2 [3,4-22,2]
	Treichville	45	3	6,7 [1,3-18,3]
	Siporex	41	2	4,9 [0,5-16,5]
	Port bouët	29	1	3,4 [0,1-17,7]
Dabou	Dabou	33	6	18,2 [6,9-35,5]
	Total	272	32	11,8 [8,2-16,2]

IC : intervalle de confiance

1.3. Contamination des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction de la provenance

Les crustacés obtenus pour la recherche de *Paragonimus* proviennent des localités d'Abidjan (Koumassi et Blokauss), Adiaké, Bassam, Dabou, Grand Lahou, Jacqueville, Tiassalé et Toukouzou.

Les échantillons contaminés par des métacercaires de trématodes proviennent de six zones (Adiaké, Bassam, Dabou, Grand Lahou, Jacqueville et Koumassi) avec des prévalences comprises entre 5,4% et 33,3%. Le tableau XX donne la prévalence d'infestation des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction de leur provenance.

Un modèle linéaire généralisé de type binomial ajusté avec le logiciel R 2.10.1 (modèle 7) en prenant en compte uniquement les six localités de provenance des crustacés infestés, a permis de montrer que la localité de Dabou est liée de façon significative ($P < 0,05$) à l'infestation des crustacés ($P=0,03$).

1.4. Contamination des crabes par des métacercaires de trématodes en fonction du sexe

La contamination des crustacés en fonction de leur sexe a été examinée uniquement avec les crabes plats (*Callinectes*) et les crabes poilus (*Cardisoma armatum*) parce qu'aucune crevette n'a été retrouvée infestée par des métacercaires de trématodes. Ainsi, sur les 18 (8 mâles et 10 femelles) crabes poilus analysés, un mâle (12,5%) et une femelle (10%) étaient infestés par des métacercaires de trématodes. Par ailleurs, sur les 221 (90 mâles et 131 femelles) crabes plats analysés, 12 mâles (prévalence 13,3 %) et 18 femelles étaient infestés (prévalence de 13,7 %). Le tableau XXI donne la prévalence des métacercaires de trématodes en fonction du sexe des crabes plats.

Un modèle linéaire généralisé de type binomial ajusté avec le logiciel R 2.10.1 (modèle 8) en prenant en compte uniquement les crabes plats, a permis de montrer que leur infestation n'est pas liée à leur sexe.

Tableau XX: Prévalence d'infestation des crustacés par des métacercaires de trématodes en fonction de leur provenance

Localités	Effectif de crustacés analysés	Effectif de crustacés infestés	Pourcentage de crustacés infestés (%) [95 % IC]
Bassam	3	1	33, 3 [0,8; 90,6]
Dabou	117	21	17,9 [11,5; 26,1]
Koumassi	8	1	12, 5 [0,3; 52,6]
Jacqueville	32	3	9,4 [1,9;25]
Adiaké	63	4	6, 3 [1,7;15,4]
Grand Lahou	37	2	5, 4 [0,6; 18,2]
Toukouzou	6	0	0, 0
Tiassalé	3	0	0, 0
Blokauss	3	0	0, 0
Total	272	32	11, 8 [8,1;16,2]

IC: intervalle de confiance

Tableau XXI: Prévalence des métacercaires de trématodes en fonction du sexe des crabes plats

Sexe	Effectif de crabes analysés	Effectif de crabes infestés	Pourcentage de crabes plats infestés (%) [95 % IC]
Mâle	90	12	13, 3 [7,1-22,1]
Femelle	131	18	13,7 [8,4- 20,8]
Total	221	30	13,6 [9,3-18,8]

IC: intervalle de confiance

2. Discussion

Les métacercaires de *Paragonimus* n'ont pas été décelées dans les 272 crustacés analysés. Aucune métacercaire de trématode n'a été trouvée dans les crevettes *Penaeus* et celles appartenant au genre *Macrobrachium*. L'absence de métacercaires dans les crevettes pourrait s'expliquer par le faible nombre de crevettes que nous avons examiné. En effet, du fait de leur indisponibilité par moment sur les marchés, nous n'avons pu analyser que 30 *Penaeus* et 3 *Macrobrachium*.

L'étude a cependant révèle la présence de métacercaires de trématodes autres que *Paragonimus* dans 2 crabes appartenant à l'espèce *Cardisoma armatum* sur les 18 analysés (prévalence 11,1 %) et dans 30 crabes appartenant au genre *Callinectes* sur les 221 examinés (prévalence 13,6 %). **Aka et al. (1999)** ont trouvé aussi des métacercaires de trématodes dans 28 crabes appartenant à l'espèce *Callinectes marginatus* sur 176 crabes qu'ils ont étudiés (prévalence 16%) au Bénin.

L'absence de métacercaires de *Paragonimus* dans les crustacés analysés pourrait s'expliquer par l'absence de foyers endémiques de la paragonimose humaine dans ces deux villes. En effet, dans le cycle biologique de ce parasite, les œufs excrétés par les malades atteints par la paragonimose qui se retrouvent dans le milieu aquatique par les expectorations ou les selles des malades, deviennent plus tard des larves de *Paragonimus* qui s'enkysteront dans des crustacés sous forme de métacercaires. Il va s'en dire que dans une localité donnée, si la paragonimose humaine n'existe pas, aucun œuf de *Paragonimus* ne sera excrété et par conséquent aucun crustacé ne sera infesté par des métacercaires de *Paragonimus*.

Nos résultats diffèrent de ceux obtenus par **Aka et al. (2008 a et 2009)** en Côte d'Ivoire. En effet, **Aka et al. (2008 a)** ont trouvé à Divo des métacercaires spécifiques de *Paragonimus* chez six crabes *C. marginatus* (crabes d'eaux saumâtres) sur les 34 examinés. Les charges parasitaires se distribuaient entre deux et 35 métacercaires par crabe tandis que le diamètre moyen des kystes était de 302 µm. De plus, **Aka et al. (2009)** ont trouvé des métacercaires de *Paragonimus* de petite taille (de 277 à 323 µm en moyenne), dans trois crabes sur les 15 appartenant à l'espèce *C. marginatus* qu'ils ont capturés autour de l'île de Lauzoua (au sud-ouest de la Côte d'Ivoire).

Il existe une diversité et un nombre élevé d'espèces de trématodes. En effet, environ 6000 espèces de trématodes ont été décrites et ces espèces comprennent les douves du foie, du poumon, et de l'intestin, collectivement connues sous le nom de trématodes

d'origine alimentaire (Whitfield, 1982 ; Keiser et Utzinger, 2009; Sithiathaworn *et al.*, 2009).

Conclusion partielle

La présente étude n'a pas permis de trouver des métacercaires de *Paragonimus* dans les 272 crustacés que nous avons analysés mais elle a permis de trouver des métacercaires d'autres trématodes dans 2 crabes appartenant à l'espèce *Cardisoma armatum* sur les 18 analysés (prévalence 11,1 %) et dans 30 crabes appartenant au genre *Callinectes* sur les 221 examinés (prévalence 13,6 %).

Les crustacés provenant de la localité de Dabou devraient faire l'objet d'une surveillance particulière parce que cette localité est liée de façon significative à l'infestation des crabes par des métacercaires de trématodes.

IV. Risque d'infection à *Vibrio* lié à la consommation des crustacés

1. Résultats

1.1. Evaluation du risque

1.1.1. Identification du danger

Les données recueillies dans la littérature soulignent que certaines espèces de *Vibrio* constituent un danger pour les consommateurs des produits de la pêche et en particulier des crustacés et des mollusques bivalves. Ce danger (*Vibrio*) est confirmé par les résultats de l'analyse bactériologique des crustacés vendus à Abidjan et à Dabou. En effet, sur les 322 échantillons de crabes et de crevettes analysés, 25 étaient contaminés par *Vibrio*, soit une prévalence de 7,8 %. Les 25 crabes et crevettes étaient contaminés par des souches de *V. alginolyticus*, *V. parahaemolyticus*, et *V. cholerae* non O1/non O139. Selon les ménagères qui ont participé au focus groups discussions, la consommation de crustacés insuffisamment fumés et achetés déjà morts sur le marché peut donner des diarrhées et aussi d'autres maladies. En effet, selon une participante du focus group que nous avons réalisé à Yopougon Kouté, les crustacés morts peuvent donner une indigestion « *J'aime plus vivant parce que mort là quand c'est mort là, souvent c'est pourrit, ça peut faire couler le ventre* ». Selon une autre participante du focus group réalisé à Abobodoumé, les crevettes peuvent rendre malade quand elles ne sont pas bien fumées « *On n'utilise pas assez les crevettes parce que le problème des crevettes là, c'est délicat. Quand ce n'est pas bien fumé, souvent ça rend malade* ». Selon une autre participante d'un focus group réalisé à Marcory, les crustacés sont toxiques et ils peuvent donner des indigestions « *C'est toxique, ça peut donner des indigestions même. C'est des trucs même quand tu viens là, la première de chose, tu prends ton éponge, tu laves, tu précuits ça avant de préparer* ». De plus les ménagères ont des stratégies propres à elles pour conserver les crabes quand ils ne sont pas consommés le même jour. Cette stratégie varie d'une famille à une autre selon les moyens financiers. Par exemple une participante d'un focus group réalisé à Williamsville utilise le chauffage pour conserver les crustacés « *Puisque je n'ai pas de frigo donc je chauffe pour garder et le lendemain je prépare* ».

1.1.2. Evaluation de l'exposition

Selon les femmes avec lesquelles nous avons fait la discussion de groupe, le temps que met la cuisson des crustacés varie selon les ménagères. Selon une participante du focus group réalisé à Williamsville, la durée de cuisson des crustacés dépend de la sauce préparée. La sauce graine met plus de temps au feu par rapport à la sauce claire ou la

aubergine « *Je n'ai jamais chronométré le temps. En tout cas au moins 2 heures sinon ça dure au feu hein* ». Selon une autre participante d'un focus group réalisé à Treichville, le temps de friture des crustacés est estimé à 5 minutes « *La grillade ne dure pas, 10 minutes même c'est trop, 5 minutes parce que c'est sur le gaz. Quand c'est gros, je fais précuire ça légèrement* ». Certaines familles consomment rarement les crabes pour des raisons économiques, par exemple une participante du focus group réalisé à Port bouët consomme les crustacés rarement « *Pas toujours, c'est par occasion. C'est les jours j'ai envie de manger que j'achète* »; D'autres les consomment tous les jours pour des raisons de préférence et gustative. En effet, une autre participante du focus group discussion réalisé à Port bouët, consomme régulièrement les crustacés « *Chaque fois. Quand je ne mange pas crabes, je ne suis pas à l'aise. Quand c'est la sauce tomate, je grille* ».

Par ailleurs, l'exposition des consommateurs de crustacés au danger *Vibrio* a été déterminée grâce au calcul de la probabilité journalière de consommation des crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat. Ce calcul a été effectué à partir des données du taux journalier moyen de consommation des crustacés par ménage avec lesquelles nous avons réalisé un bootstrap non paramétrique et à partir des paramètres de la distribution bêta pour 5 données essentielles: la proportion des consommateurs de crustacés, la proportion des consommateurs de crabes, la proportion des consommateurs de crevettes, la prévalence des *Vibrio* dans les crabes et la prévalence de *Vibrio* dans les crevettes. La distribution Bêta a été utilisée pour quantifier notre incertitude sur les vraies valeurs de la proportion des consommateurs de crustacés, la proportion des consommateurs de crabes, la proportion des consommateurs de crevettes, la prévalence des *Vibrio* dans les crabes et la prévalence des *Vibrio* dans les crevettes. Le bootstrap non paramétrique est un outil qui permet de calculer numériquement l'incertitude d'un ensemble de données de mesures par plusieurs reprises des résultats au hasard parmi l'ensemble des données.

1.1.2.1. Paramètres de la distribution Bêta pour les variables du modèle 1

La recherche de *Vibrio* dans les crustacés a montré que 9 crabes sur les 170 analysés étaient contaminés par *Vibrio* (5,3%) et 16 crevettes sur les 152 analysées étaient également contaminées par *Vibrio* (10,5%). Ces données ont permis donc de calculer les paramètres de la distribution Bêta (10;162) de la prévalence de *Vibrio* dans les crabes, et les paramètres de la distribution Bêta (17;137) de la prévalence de *Vibrio* dans les crevettes grâce à la formule 10.

L'enquête ménage à Abidjan a permis de constater que 114 ménages sur les 120 enquêtés consomment les crabes (95%) et que 6 ménages sur les 120 enquêtés consomment les crevettes (5%). Ces données ont aussi permis de calculer les paramètres de la distribution Béta (115;7) de la proportion de ménages consommateurs de crabes et les paramètres de la distribution Béta (7;115) de la proportion de ménages consommateurs de crevettes grâce à la formule 10.

Le pourcentage des ménages consommateurs de crustacés était de 96% (29 ménages sur 30 interrogés consomment les crustacés). Ces données ont permis de calculer les paramètres de la distribution Béta (30;2) de la proportion des ménages consommateurs de crustacés grâce à la formule 10. Le tableau XXII donne l'ensemble des distributions associées aux variables du modèle 1.

1.1.2.2. Probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat

La probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat a été déterminé par stimulations Monte Carlo à l'aide du logiciel ModelRisk 4.0 grâce au modèle 1 que nous avons construit à partir de la distribution Béta (10;162) de la prévalence de *Vibrio* dans les crabes, de la distribution Beta (17;137) de la prévalence de *Vibrio* dans les crevettes, de la distribution Béta (115;7) de la proportion de ménages consommateurs de crabes, de la distribution Béta (7;115) de la proportion de ménages consommateurs de crevettes, de la distribution Béta (30;2) de la proportion des ménages consommateurs de crustacés et du bootstrap non paramétrique réalisé avec les données du taux journalier moyen de consommation des crustacés par ménage.

La probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat est de 0,013. Le tableau XXIII donne la probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat.

1.1.2.3. Analyse de la sensibilité du modèle 1

Une analyse de sensibilité du modèle 1 a été réalisée à l'aide du logiciel Modelrisk 4.0 pour savoir si l'un des paramètres associé à la consommation des crustacés influence la probabilité de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur l'achat. Ces paramètres sont la proportion des consommateurs de crustacés, la proportion des consommateurs de crabes, la proportion des consommateurs de crevettes, la prévalence

des *Vibrio* dans les crabes, le taux journalier moyen de consommation des crustacés par ménage et la prévalence des *Vibrio* dans les crevettes.

La figure 36 montre que la prévalence des *Vibrio* dans les crabes, suivie du taux journalier moyen de consommation des crustacés par ménage influencent la probabilité de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat. En effet, ces deux variables du modèle 1 présentent les largeurs de bandes les plus élevées.

Tableau XXII: Distributions associées aux variables du modèle 1

Variables	Distribution
Proportion des consommateurs de crustacés (P_1)	Beta (30;2)
Taux journalier moyen de consommation des crustacés par personne et par ménage (T_1)	Bootstrap non paramétrique
Proportion des consommateurs des crabes (P_2)	Beta (115;7)
Prévalence des <i>Vibrio</i> dans les crabes (P_3)	Beta (10;162)
Proportion des consommateurs des crevettes (P_4)	Beta (7;115)
Prévalence des <i>Vibrio</i> dans les crevettes (P_5)	Beta (17;137)

Tableau XXIII: Probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat

Paramètres	Valeurs
Moyenne journalière	0,013
Minimum	0,003
Maximum	0,032
Ecart-type	0,004

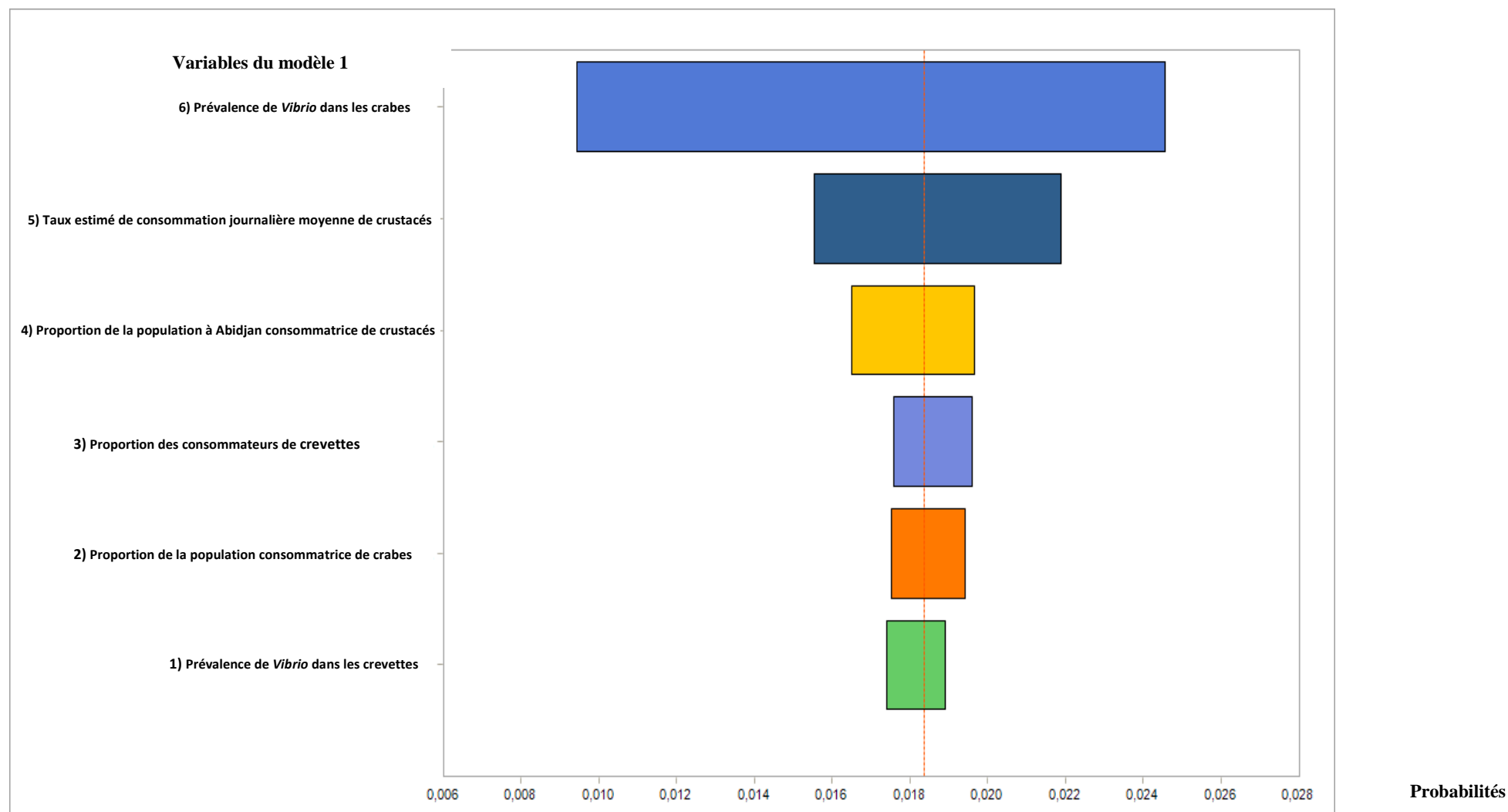


Figure 36: Analyse de sensibilité du modèle 11 pour savoir quel paramètre influence la probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* sp. au moment de leur achat

2. Discussion

La probabilité journalière de consommation des crustacés contaminés par *Vibrio* sp. au moment de leur achat est de 0,013. Ce résultat pourrait s'expliquer par le fait que 45,8 % des ménages consomment les crustacés occasionnellement et 42,5 %, les consomment rarement selon l'enquête ménage que nous avons réalisée à Abidjan. Ce résultat pourrait aussi s'expliquer par la faible prévalence de contamination des crustacés qui est de 7,8 %.

L'analyse de sensibilité du modèle 1 explique mieux ce résultat en montrant que la prévalence de *Vibrio* dans les crabes et le taux journalier moyen de consommation des crustacés par ménage qui est lui-même lié à la fréquence journalière de consommation des crustacés influencent la probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* sp. au moment de leur l'achat.

Nous n'avons pas pu estimer le risque d'infection à *Vibrio* non cholérique lié à la consommation des crustacés parce nous avons travaillé sur des crustacés frais donc il n'a pas été possible pour nous de déterminer la dose de *Vibrio* effectivement ingérée par les consommateurs. Compte tenu de la faible probabilité journalière de consommation des crustacés contaminés par *Vibrio* sp. au moment de leur achat, le risque de contraction d'infection à *Vibrio* non cholérique serait probablement faible. En effet, selon l'enquête ménage que nous avons réalisée à Abidjan, 89,2 % des ménages interrogés consomment les crustacés bouillis (en sauce). Les échanges que nous avons eu avec les ménagères par les discussions de groupe nous ont permis de nous rendre compte qu'elle font ainsi bien cuire les crustacés pour éviter d'exposer leur famille à d'éventuelles infections liées à une cuisson insuffisante.

Cependant, même si la majorité des ménages fait bien cuire les crustacés avant de les consommer le même jour, le risque d'infections à *Vibrio cholerae* non O1 ; non O 139, *Vibrio parahaemolyticus* et *Vibro alginolyticus* peut subsister lorsque le délai entre la cuisson et la consommation est élevé et si la cuisson n'a pas détruit tous les vibrions. Une étude réalisée par **Farama et al. (2008)** a, en effet, montré que les vibrions restants après la cuisson des crustacés peuvent se multiplier à nouveau si le produit n'est pas conservé à une température inférieure à 4 °C. Dans une étude menée dans des restaurants de la Nouvelle-Orléans, la bactérie *V. parahaemolyticus* a été retrouvée dans 50 % des échantillons d'huîtres cuites, 67 % des échantillons de crevettes bouillies et 33 % des échantillons de salades de crabe (**FDA, 2005**). Des cas d'infections dues à l'ingestion d'écrevisses cuites ont eu lieu aussi aux États-Unis (**Bean et al., 1998**).

Des gastro-entérites aiguës, des infections cutanées, des otites, des conjonctivites et des infections extra-intestinales avec des signes de maladie invasive, sont des symptômes que pourraient avoir les consommateurs de crustacés. En effet, la bactérie *Vibrio parahaemolyticus* est connue comme une cause majeure de gastro-entérite aiguë par ingestion de fruits de mer et les souches de *V. cholerae* non-O1/non-O139 peuvent provoquer des infections cutanées (Feldhusen, 2000). La bactérie *V. alginolyticus* est principalement associée à des infections à *Vibrio* d'origine non alimentaire telles des otites, des conjonctivites, des pyodermites superficielles (Sganga *et al.*, 2009).

Par ailleurs, le risque indirect de contraction des infections à *Vibrio* non cholériques lié à la consommation crue de certains aliments, notamment certains légumes existe puisque l'enquête ménage a montré que dans 45,8% des ménages, il y'a contact entre les crustacés et les autres aliments dans le panier de la ménagère. Le contact entre les crustacés et certains légumes dans le panier de la ménagère pourrait entraîner une contamination par *Vibrio* de ces légumes qui sont consommés crus et exposer ainsi de façon indirecte les personnes qui consommeront ces légumes crus au sein des ménages.

Conclusion partielle

La probabilité journalière de consommation des crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat est de 0,013. Cette probabilité est influencée par la prévalence de *Vibrio* dans les crabes et le taux journalier moyen de consommation des crustacés par ménage. Il ressort de cette étude que les ménagères consommatrices de crustacés sont conscientes du danger que représente la consommation de crustacés insuffisamment cuits et surtout achetés morts.

V. Présence du bacille tuberculeux dans les crachats des patients et de parasites intestinaux dans les selles des patients et des élèves

1. Résultats

1.1. Prévalence de la paragonimose humaine et de la tuberculose pulmonaire au niveau des patients des deux centres antituberculeux

Au total, 332 patients ont été inclus dans l'étude au niveau des deux centres antituberculeux (168 patients au CAT d'Adjamé et 164 patients au CAT de Treichville) pour maximiser nos chances de trouver des cas de paragonimose. Sur les 332 patients, 278 (83,7 %) ont fourni trois échantillons de crachats, un échantillon de selles et ont répondu à notre questionnaire. Ainsi sur les 278 patients, 36 (25,9 %) au niveau du CAT d'Adjamé et 26 (18,7%) au niveau du CAT de Treichville souffraient de la tuberculose pulmonaire. Aucun patient n'avait la paragonimose humaine (0 %) à l'analyse de leurs crachats (Tableau XXIV). Le risque relatif (RR) qui permet d'identifier les patients de la paragonimose parmi ceux qui consultent pour la tuberculose est donc nul.

1.2. Prévalence de la tuberculose pulmonaire au niveau des patients des deux centres antituberculeux en fonction de leur sexe

Nous avons trouvé une différence significative de la tuberculose pulmonaire entre les 186 patients (86 au CAT d'Adjamé et 100 au CAT de Treicville) et les 146 patientes (82 au CAT d'Adjamé et 64 au CAT de Treichville) au niveau des deux CAT. En effet, le test de khi-deux a permis de montrer que les hommes étaient plus atteints par la tuberculose que les femmes (28,8 % contre 13,9 %, $\chi^2 = 5,68$, $p = 0,02$), $P < 0,05$. Le tableau XXV donne la répartition des patients atteints par la tuberculose selon le sexe.

1.3. Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux au niveau des patients des deux centres antituberculeux

La recherche d'œufs de *Paragonimus* dans les selles des patients des centres antituberculeux s'est avérée négative mais des helminthes et des protozoaires intestinaux ont été retrouvés dans les selles des patients. Des cas de deux infestations (patients infestés par deux parasites à la fois) et trois infestations (patients infestés par trois parasites à la fois) ont été observés (Tableau XXVI).

Tableau XXIV : Résultats de la recherche du bacille tuberculeux et de *Paragonimus* dans les crachats selon la répartition des patients dans les centres antituberculeux (n=278)

Agents pathogènes	Nombre de patients positifs (%)		Nombre de patients négatifs (%)		Total
	CAT	CAT de	CAT	CAT de	
	d'Adjamé	Treichville	d'Adjamé	Treichville	
<i>M. tuberculosis</i>	36(25,9)	26 (18,7)	103 (74,1)	113(81,3)	278
<i>Paragonimus sp.</i>	0 (0)	0 (0)	139 (100)	139 (100)	278

Tableau XXV: Répartition des personnes atteintes par la tuberculose selon le sexe

Sexe	Effectif des patients examinés		Effectif des patients infectés		Pourcentage des patients infectés (%) [95 % IC]	
	CAT d'Adjamé	CAT de Treichville	CAT d'Adjamé	CAT de Treichville		
Hommes	72	84	28	17	28,8	[21,9-36,6]
Femmes	67	55	8	9	13,9	[8,3-21,4]
Total	139	139	36	26	22,3	[17,5-27,6]

IC : intervalle de confiance

Tableau XXVI: Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux chez les patients des CAT (n = 278)

Parasites	Patients infestés au niveau des CAT, n=278		
	Effectifs des hommes (%)	Effectifs des femmes (%)	Effectifs Total (%)
Aucune infestation	116 (74,3)	85 (69,6)	201 (72,3)
Une infestation	35 (22,4)	25 (20,5)	60 (21,6)
Helminthes	9 (5,7)	4 (3,3)	13 (4,6)
Ankylostome	3 (1,9)	1 (0,8)	4 (1,4)
<i>Schistosoma mansoni</i>	2 (1,3)	3 (2,4)	5 (1,8)
<i>Strongyloides stercoralis</i>	4 (2,6)	0	4 (1,4)
<i>Paragonimus</i>	0	0	0
Protozoaires Intestinaux	26 (16,7)	21 (17,2)	47 (16,9)
<i>Entamoeba coli</i>	21 (13,4)	15 (12,3)	36 (12,9)
<i>Endolimax nana</i>	3 (1,9)	2 (1,6)	5 (1,8)
<i>Giardia intestinalis</i>	2 (1,3)	2 (1,6)	4 (1,4)
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	0	1 (0,8)	1 (0,3)
<i>Chilomastix mesnili</i>	0	1 (0,8)	1 (0,3)
Deux infestations	5 (3,2)	10 (8,2)	15 (5,4)
Trois infestations	0	2 (1,6)	2 (0,7)

1.4. Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux en fonction du sexe des patients

Le test de khi-deux a permis de montrer que la différence d'infestation par les helminthes entre les hommes et les femmes n'était pas significative (5,7 % contre 3,3 %, $\chi^2 = 0,87$, $p = 0,35$), $P > 0,05$. Il a aussi permis de montrer que la différence d'infestation par les protozoaires intestinaux entre des hommes et les femmes n'était pas significative (16,6 % contre 17,2 %, $\chi^2 = 0,01$, $p = 0,91$), $P > 0,05$. Le tableau XXVII donne la répartition des patients infestés par les helminthes et les protozoaires selon le sexe.

1.5. Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux au niveau des élèves des deux écoles primaires de Dabou

Au total, pour maximiser nos chances de trouver des cas de paragonimose chez les élèves des deux écoles primaires de Dabou (145 élèves à N'Gatty et 124 élèves à Allaba), 269 élèves ont été inclus dans l'étude. Tous les 269 élèves enrôlés dans l'étude ont fourni un échantillon de selles pour la recherche d'œufs de *Paragonimus* par la technique de Kato-Katz et ont répondu à notre questionnaire. De ces 269 échantillons de selles, seulement 166 (61,7 %) ont été préservés dans une solution de SAF pour rechercher aussi des œufs de *Paragonimus* et d'autres parasites par la technique d'éther-concentration. Les 103 échantillons n'ayant pas pu être conservés dans la solution de SAF n'étaient pas suffisants pour faire à la fois la technique de Kato-Katz et les conserver dans du SAF pour effectuer ultérieurement la technique d'éther-concentration. La recherche d'œufs de *Paragonimus* dans les selles des élèves s'est avérée négative. Cependant des helminthes et des protozoaires intestinaux ont été retrouvés (Tableau XXVIII).

1.6. Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux en fonction du sexe des élèves des deux écoles primaires de Dabou

Une différence significative de l'infestation par les helminthes entre les 152 garçons (85 à N'Gatty et 67 à Allaba) et les 117 filles (60 à N'Gatty et 57 à Allaba) a été trouvée au niveau des deux écoles primaires. En effet, le test de khi-deux a permis de montrer que les garçons étaient plus infestés par les helminthes que les filles (32,9 % contre 8,3 %, $\chi^2 = 9,43$, $p = 0,002$), $P < 0,05$. Il a aussi permis de montrer que la différence d'infestation par les protozoaires intestinaux entre les garçons et les filles n'était pas significative (57,4 % contre 13,9 %, $\chi^2 = 2,28$, $p = 0,13$), $P > 0,05$. Le tableau XXIX donne la répartition des élèves infestés par les helminthes et les protozoaires selon le sexe.

Tableau XXVII:Répartition des patients infestés par les helminthes et les protozoaires selon le sexe

	Effectif des patients examinés	Effectif des patients infestés	Pourcentage des patients infestés (%) [95 % IC]
Helminthes			
Hommes	156	9	5,7 [2,7-10,7]
Femmes	122	4	3,3 [0,9-8,2]
Total	278	13	4,6 [2,5-7,8]
Protozoaires			
Hommes	156	26	16,6 [11,2-23,5]
Femmes	122	21	17,2 [10,9-25,1]
Total	278	47	16,9 [12,7-21,8]

IC: intervalle de confiance

Tableau XXVIII : Prévalence des helminthes et des protozoaires intestinaux chez les élèves

(n = 166)

Elèves infestés, n = 166			
Parasites	Effectifs des garçons (%)	Effectifs des filles (%)	Effectifs Total (%)
Aucune infestation	54 (57,4)	54 (75,0)	108 (65,1)
Une infestation	19 (20,2)	10 (13,9)	29 (17,5)
Helminthes	31 (32,9)	6 (8,3)	37 (22,3)
Ankylostome	19 (20,2)	3 (4,2)	22 (13,3)
<i>Trichocéphale</i>	9 (9,6)	3 (4,2)	12 (7,2)
<i>Ascaris lumbricoides</i>	3 (3,2)	0	3 (1,8)
<i>Paragonimus</i>	0	0	0
Protozoaires Intestinaux	54 (57,4)	27 (37,5)	81 (48,8)
<i>Entamoeba coli</i>	14 (14,9)	9 (12,5)	23 (13,8)
<i>Endolimax nana</i>	13 (13,8)	5 (6,9)	18 (10,8)
<i>Blastocystis hominis</i>	9 (9,6)	2 (2,8)	11 (6,6)
<i>Giardia intestinalis</i>	3 (3,2)	5 (6,9)	8 (4,8)
<i>Entamoeba histolytica</i>	6 (6,4)	5 (6,9)	11 (6,6)
<i>Iodamoeba bütschlii</i>	5 (5,3)	1 (1,4)	6 (3,6)
<i>Chilomastix mesnili</i>	4 (4,3)	0	4 (2,4)
Deux infestations	10 (10,6)	4 (5,6)	14 (8,4)
Trois infestations	4 (4,3)	2 (2,8)	6 (3,6)
Quatre infestations	5 (5,3)	2 (2,8)	7 (4,2)
Cinq infestations	2 (2,1)	0	2 (1,2)

Tableau XXIX: Répartition des élèves infestés par les helminthes et les protozoaires selon le sexe

	Effectif des élèves examinés	Effectif des élèves infestés	Pourcentage des élèves infestés (%) [95 % IC]
Helminthes			
Garçons	94	31	32,9 [23,6-43,4]
Filles	72	6	8,3 [3,1-17,3]
Total	166	37	22,3 [16,2-29,4]
Protozoaires			
Garçons	94	54	57,4 [46,8-67,6]
Filles	72	27	37,5 [26,4-49,7]
Total	166	81	48,8 [40,9-56,6]

IC: intervalle de confiance

1.7. Symptômes de la paragonimose humaine, habitudes alimentaires et culinaires des patients et des élèves interrogés

Le questionnaire fourni aux patients des CAT a permis de révéler que sur les 278 patients interrogés, 216 (77,7 %) consomment les crustacés. Il a aussi permis de révéler que la majorité d'entre eux consomment les crustacés sous la forme cuite. En effet, parmi les 216 consommateurs de crustacés, 204 (94,4 %) les consomment bouillis (en sauce), 10 (4,6 %) les mangent frits, 1 (0,5 %) sous la forme braisée et 1 (0,5 %) sous la forme crue. Par ailleurs, suite à la consommation de crustacés, 248 (89,2 %) patients parmi les 278 ont rapporté avoir eu la toux, 199 (71,6 %) parmi les 278 patients rapportaient des douleurs thoraciques et 52 (18,7 %) avaient rapporté une hémoptysie (Tableau XXX).

Sur les 166 élèves interrogés, 163 (98,2 %) consomment les crustacés sous la forme bouillie (100 %). Les symptômes de maladies apparus suite à la consommation des crustacés, rapportés par la majorité des élèves sont la toux et des douleurs thoraciques. En effet, 87 (52,4 %) élèves parmi les 166 avaient la toux, 62 (37,3 %) élèves rapportaient des douleurs thoraciques et 17 (10,2 %) avaient une hémoptysie (Tableau 30). La plupart des patients (74,8%) et des élèves boivent l'eau de robinet (57,8).

Tableau XXX: Caractéristiques de deux cohortes, facteurs potentiels de risque de la paragonimose et symptômes de cette parasitose

Caractéristiques	Patients des CAT, n = 278	Élèves, n = 166
	Effectifs (%)	Effectifs (%)
Sexe		
Homme	156 (56,1)	94 (56,6)
Femme	122 (43,9)	72 (43,4)
Age (années)		
Moyenne	37,7	11,23
Intervalle	[8 – 80]	[6 -15]
Consommation de crustacés		
Non	62 (22, 3)	3 (1,8)
Oui	216 (77,7)	163 (98,2)
Bouillie (en sauce)	204 (94,4)	163 (100)
Frite	10 (4,6)	0
Braisée	1 (0,5)	0
Crue	1 (0,5)	0
Source d’approvisionnement en eau		
Eau de robinet	208 (74,8)	96 (57,8)
Eau de borne fontaine	6 (2,2)	0
Eau vendue dans la rue	57 (20,5)	1 (0,6)
Puits	6 (2,2)	69 (41,6)
Autre (marigot, rivière)	1 (0,4)	0
Symptômes de la paragonimose		
Toux chronique	248 (89,2)	87 (52,4) *
Douleurs abdominales	199 (71,6)	62 (37,3)
Hémoptysie	52 (18,7)	17 (10,2)**

* Elèves rapportant avoir eu la toux après consommation des crustacés

** Elèves rapportant avoir du sang dans les crachats

Le diagramme ci-après décrit mieux la participation des élèves des deux écoles primaires de Dabou et des patients de deux centres antituberculeux d’Abidjan dans la recherche de la paragonimose humaine (Figure 37).

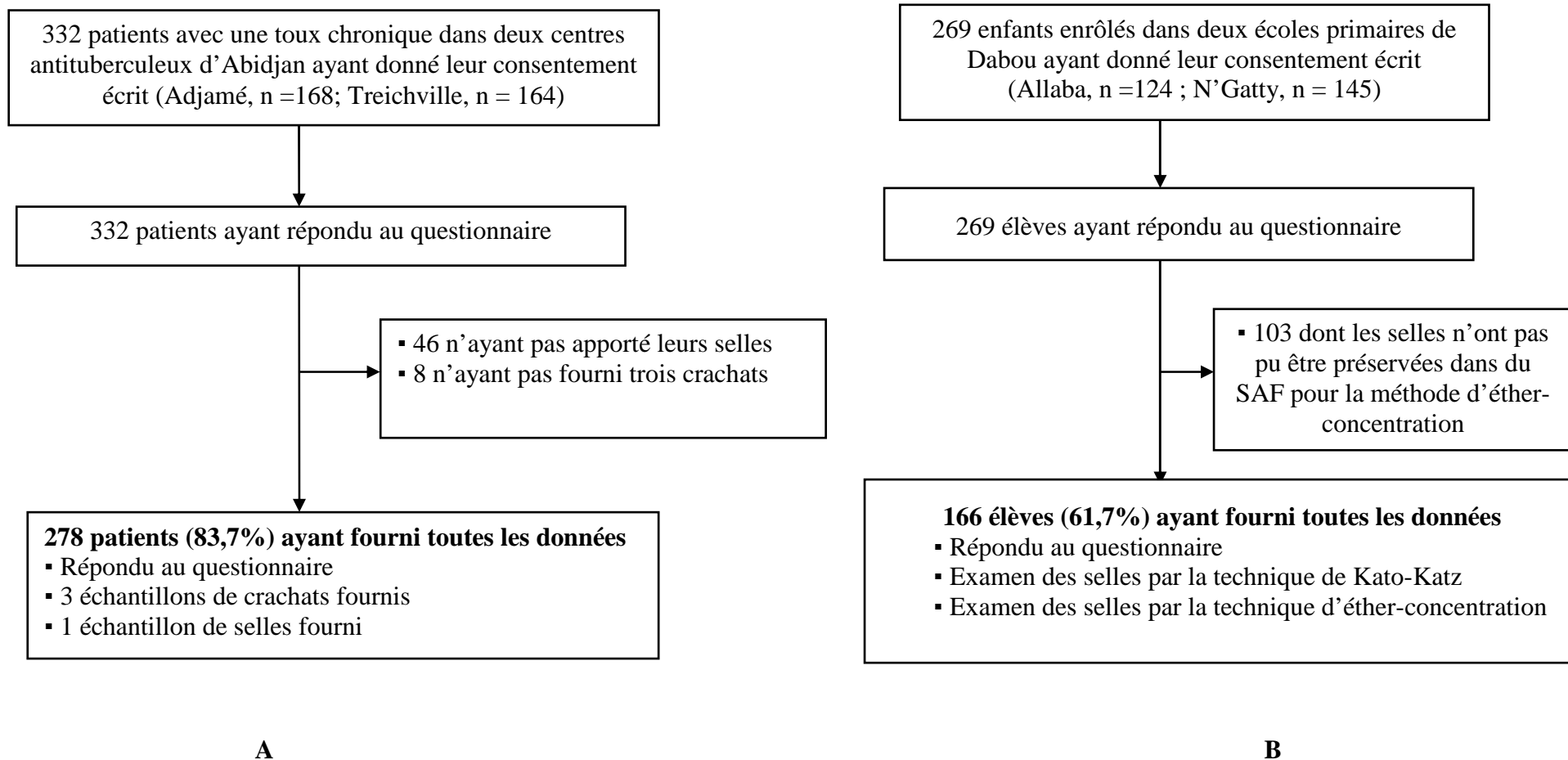


Figure 37: Diagramme décrivant la participation à deux enquêtes épidémiologiques sur la paragonimose des patients de deux centres antituberculeux d'Abidjan (A) et des élèves de deux écoles primaires de Dabou (B) en 2009 et 2010.

2. Discussion

Dans la présente étude réalisée dans les centres antituberculeux de Treichville et d'Adjamé à Abidjan, et dans les écoles primaires d'Allaba et de N'Gatty de Dabou, aucune infestation à *Paragonimus* n'a été détectée bien que des symptômes spécifiques de la paragonimose aient été observés chez les patients et les élèves. Les symptômes caractéristiques d'une localisation pulmonaire du parasite sont la toux chronique, l'hémoptysie, des douleurs thoraciques et des lésions pulmonaires visibles sur radiographie pulmonaire (Moyou-Somo *et al.*, 2003 b). En effet, 89,2 % des patients parmi les 278 ont rapporté avoir la toux, 71,6 % ont rapporté des douleurs thoraciques et 18,7 % une hémoptysie. Aussi, sur les 166 élèves interrogés, 52,4 % avaient-ils la toux, 37,3 % des douleurs thoraciques et 10,2 % une hémoptysie.

Par ailleurs, une prévalence de 22,3 % de la tuberculose pulmonaire a été observée parmi les patients dans les centres antituberculeux de Treichville et d'Adjamé avec une prévalence significativement plus élevée chez les hommes que chez les femmes. De plus, des helminthoses autres que la paragonimose humaine, ainsi que des infections intestinales ont été observées aussi bien chez les patients que chez les écoliers. L'état de santé des patients dans les centres antituberculeux qui n'ont pas la tuberculose pulmonaire et la paragonimose humaine (77,7 %) incite à des études plus approfondies pour élucider l'étiologie de leur toux chronique qui nécessite un diagnostic approprié.

L'absence de la paragonimose humaine chez les patients et les élèves pourrait s'expliquer par les pratiques culinaires notamment l'ébullition des crustacés qui détruit les métacercaires de *Paragonimus*. Les patients et les élèves affirment bien faire cuire les crustacés sous la forme bouillie dans des sauces avant de les consommer. En effet, les métacercaires hébergées par les crabes sont détruites après une cuisson des crustacés pendant au moins 10 min à une température de 55 ° C (Guillermain, 1981).

Des recherches antérieures ont montré que les infestations à *Paragonimus* ont été détectées après l'analyse répétée d'échantillons d'expectorations et de selles prélevés à des intervalles de temps réguliers chez le même individu. Des cas de paragonimose humaine pourraient avoir été manqués, en raison du caractère irrégulier des œufs pondus par les parasites adultes, comme l'a montré Miyazaki (Miyazaki, 1991).

Nous avons examiné trois échantillons d'expectorations sur deux jours au lieu d'un de tous les patients dans les centres de la tuberculose pour augmenter nos chances de trouver des œufs de *Paragonimus* (Moyou-Somo *et al.*, 1983 ; Mukae *et al.*, 2001).

Cependant aucun des échantillons de crachats n'a été trouvé positif pour les œufs de *Paragonimus*.

En ce qui concerne les examens de selles, nous avons utilisé deux approches diagnostiques dans l'enquête épidémiologique sur la paragonimose humaine au niveau des deux écoles primaires de Dabou : la méthode de Kato-Katz et une méthode d'éther concentration appliquée à des échantillons de selles conservés dans une solution de SAF. La combinaison de ces deux techniques permet d'améliorer la précision du diagnostic des helminthoses (Steinmann *et al.*, 2008 ; Knopp *et al.*, 2008). Pourtant, dans la présente étude, aucun œuf de *Paragonimus* n'a été trouvé.

Un certain nombre d'études à grande échelle a été mené dans différentes régions de la Côte d'Ivoire, à la fois dans les écoles et dans des communautés entières sur les parasites intestinaux et la bilharziose. Ces études ont permis de trouver des prévalences d'helminthes et de protozoaires intestinaux plus élevées que celles obtenues dans notre étude (Utzinger *et al.*, 2010 ; Utzinger *et al.*, 1999 ; Keiser *et al.*, 2002 ; Staubli *et al.*, 2001; N'Goran *et al.*, 2003 ; Raso *et al.*, 2004; Ouattara *et al.*, 2010 ; Glinz *et al.*, 2010).

Bien que nous n'ayons pas pu identifier des cas de paragonimose humaine dans l'étude actuelle, nous ne pouvons pas conclure que la paragonimose humaine est totalement absente de la Côte d'Ivoire. La paragonimose humaine, semblable à d'autres trématodoses, a une distribution très focale. Typiquement, les foyers de transmission sont détectés avec le diagnostic d'une personne gravement malade qui va se faire soigner dans un service de santé (Strobel *et al.*, 2005). Le dépistage de cette personne peut conduire à une enquête approfondie pour la caractérisation du foyer (Odermatt *et al.*, 2007 a). Une surveillance à grande échelle est donc nécessaire afin de détecter activement les foyers de paragonimose humaine. Une approche par questionnaire s'est avérée utile pour le dépistage de la paragonimose humaine en Asie du Sud-est (Odermatt *et al.*, 2009). Cette approche pourrait également améliorer le taux de détection des cas de tuberculose pulmonaire (Odermatt *et al.*, 2007 b). Il serait intéressant de valider cette approche par questionnaire dans un contexte africain. Des études récentes ont montré que les œufs de *Paragonimus* ne sont pas détruits par la technique de coloration de Ziehl-Neelsen largement utilisée pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire (Slesak *et al.*, 2011). Par conséquent, les cas de paragonimose humaine peuvent être détectés rétrospectivement par le réexamen des échantillons d'expectorations colorés par la technique de Ziehl-Neelsen et conservés dans les centres de la tuberculose.

Conclusion partielle

Aucun cas de paragonimose humaine n'a été détecté dans la présente étude réalisée dans les centres antituberculeux de Treichville et d'Adjamé à Abidjan et dans les écoles primaires d'Allaba et de N'Gatty de Dabou. Cependant, une prévalence de 22,3 % de la tuberculose pulmonaire a été observée parmi les patients dans ces deux centres antituberculeux et des helminthoses autres que la paragonimose humaine, ainsi que des protozooses intestinales ont été observées aussi bien chez les patients que chez les écoliers.

Bien que nous n'ayons pas pu dépister des cas de paragonimose humaine dans notre étude, une attention particulière doit être accordée à certaines personnes qui consomment les crustacés sous la forme crue ou braisée et certaines populations cibles (enfants, ménagères, pêcheurs) qui manipulent ou consomment les crustacés lorsqu'elles sollicitent les services de santé pour une toux chronique.

CONCLUSION GENERALE

Ce travail qui s'intègre dans l'évaluation du risque de contraction des infections à *Vibrio* et des infestations à *Paragonimus* suite à la consommation des crabes et des crevettes vendus sur les marchés d'Abidjan et de Dabou avait plusieurs objectifs spécifiques.

Il a permis de montrer que les crabes *Callinectes* et les crevettes *Penaeus* étaient contaminés par les *Vibrio* (7,8 %) et qu'aucun crabe appartenant à l'espèce *Cardisoma armatum* ni aucune crevette *Macrobrachium* n'étaient contaminés par les *Vibrio*. L'identification des 25 souches de *Vibrio* isolées des crustacés a révélé qu'elles appartenaient à trois espèces qui sont *V. cholerae* non O1 et non O139 (24%), *V. parahaemolyticus* (36%) et *V. alginolyticus* (40%) dont cette dernière était l'espèce prédominante. Les gènes codant pour des facteurs de virulence majeurs de *Vibrio cholerae* et de *Vibrio parahaemolyticus* n'ont pas été détectés par PCR.

Les discussions de groupes entreprises pour l'évaluation du risque d'infection à *Vibrio* lié à la consommation des crustacés ont permis de montrer que les ménagères consommatrices des crustacés sont conscientes que la consommation de crustacés insuffisamment cuits et achetés morts peut entraîner des maux de ventre et des diarrhées. Ainsi pour éviter de contracter des infections liées à la consommation des crustacés, elles font bien cuire les crustacés avant de les consommer.

Une évaluation de l'exposition des consommateurs de crustacés au danger *Vibrio* a donc été réalisée grâce à une modélisation stochastique qui a permis de trouver une probabilité journalière de consommation des crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat de 0,013. Cette probabilité journalière de consommation de crustacés contaminés par *Vibrio* au moment de leur achat est influencée par la prévalence de *Vibrio* dans les crabes et le taux journalier moyen de consommation des crustacés par ménage qui est lui-même lié à la fréquence journalière de consommation des crustacés.

La recherche de métacercaires de *Paragonimus* dans les crustacés a montré que les crabes *Callinectes* et *Cardisoma armatum* n'étaient pas infestés par *Paragonimus* mais contenaient des métacercaires d'autres trématodes (11,8 %). Les crabes *Callinectes* et *Cardisoma armatum* sont donc des hôtes intermédiaires de trématodes autres que *Paragonimus*.

Par ailleurs, les analyses de selles et de crachats effectuées auprès des élèves de Dabou et des patients des CAT d'Adjamé et de Treichville n'ont pas permis de trouver des cas de paragonimose. Cependant, une prévalence de 22,3 % de la tuberculose pulmonaire a été trouvée au niveau des centres antituberculeux avec une infection significativement plus

élevée chez les hommes que chez les femmes (28,8 % contre 13,9 %). En outre, au niveau des écoles primaires, les garçons étaient significativement plus infestés par les helminthes que les filles (32,9 % contre 8,3 %).

Les facteurs de risques de la paragonimose n'ont pas pu être déterminés parce que d'une part *Paragonimus* n'a pas été retrouvé dans les crustacés analysés, et d'autre part aucun cas de paragonimose n'a été détecté aussi bien chez les patients des centres antituberculeux que chez les élèves des deux écoles primaires. Cependant, de potentiels facteurs de risques d'infections à *Vibrio* liés à la consommation des crustacés ont été déterminés. Ces facteurs sont: les conditions de vente, le contact des crustacés avec les autres aliments dans le panier de certaines ménagères, la consommation journalière des crustacés par certains ménages, la courte durée de cuisson des crustacés et la consommation de la moitié d'un crabe plat par personne au sein de certains ménages. En effet, l'enquête auprès des vendeuses de crustacés a révélé que la plupart d'entre elles (70,2 %), vendaient les crustacés sans glace. L'enquête ménage a révélé que 11,7 % des ménages consommaient les crustacés tous les jours et que le temps de cuisson des crustacés dans les ménages variait de 5 minutes à plus d'une heure. Les crabes du genre *Callinectes* (crabes plats) sont plus consommés dans 89,2 % des ménages, avec 82,5 % de ménages les achetant vivants et 6,7 % les achetant morts. L'enquête ménage a également montré que dans 43,3 % des ménages, chacune des personnes habitant dans ces ménages consomme la moitié d'un crabe plat et qu'il y avait un contact direct entre les crustacés et les autres aliments dans le panier de la ménagère dans 45,8 % des ménages.

RECOMMANDATIONS

L'étude a permis de montrer qu'il existe de potentiels facteurs de risque d'infections liés à la consommation des crustacés. Eu égard à ces potentiels facteurs de risque que peut constituer la consommation de crustacés crus ou insuffisamment cuits, il nous apparaît important de faire à l'endroit des autorités, des vendeuses et des consommateurs de ces aliments, quelques recommandations

Les autorités doivent sensibiliser les commerçantes aux bonnes pratiques d'hygiène afin de réduire la multiplication des *Vibrio* en particulier et celle des autres bactéries dans les crustacés.

Les commerçantes doivent vendre les crustacés dans des récipients propres et désinfectés à chaque vente. Les vendeuses de crevettes doivent veiller à ce que les crevettes soient vendues toute la journée avec de la glace pour maintenir leur température de vente.

Les consommateurs de crustacés doivent faire correctement cuire les crabes et les crevettes avant de les consommer et surtout les consommer juste après leurs cuissons pour éviter une multiplication éventuelle des vibrions. Il faudra qu'ils évitent de mélanger les crustacés avec les autres aliments dans le panier de la ménagère ou de les conserver au réfrigérateur au contact des autres aliments à cause de la contamination croisée entre crustacés contaminés par *Vibrio* sp. et par d'autres germes et les autres aliments. Il faudra également qu'ils évitent d'acheter les crabes morts.

Même si l'étude n'a pas permis de trouver des cas de paragonimose au niveau des centres antituberculeux, le diagnostic différentiel entre la paragonimose humaine et la tuberculose pulmonaire doit être systématiquement effectué chez tous les touseurs chroniques en examinant leur crachat pour détecter d'éventuel cas de paragonimose. La recherche des deux germes (*Paragonimus* et Bacille tuberculeux) peut se faire sur le même crachat et la recherche de *Paragonimus* dans les crachats nécessite peu de moyens.

PERSPECTIVES

Les résultats obtenus et les commentaires dégagés dans ce présent travail sont bien loin d'apporter de façon exhaustive toutes les réponses quant à la qualité sanitaire des crustacés et le risque de contraction des infections à *Vibrio* et des infestations à *Paragonimus*. Il nous paraît alors important, pour la poursuite de ce travail, de déterminer la dose de *Vibrio* effectivement ingérée par les consommateurs de crustacés par la recherche de *Vibrio* dans les crustacés cuits afin d'établir d'une part la relation entre la dose de *Vibrio* ingérée et la survenue d'une infection à *Vibrio* et le risque annuel d'infection à *Vibrio* lié à de multiples expositions.

Il serait utile aussi d'identifier par la biologie moléculaire les métacercaires de trématodes que nous avons retrouvées dans les crabes. Cette identification permettra de connaître les espèces de trématodes qui infestent les crabes *Cardisoma* et *Callinectes*. Il serait aussi utile de réaliser la même étude au niveau d'autres sites de production notamment la ville de Grand-Lahou et celle de Jacqueville.

Par ailleurs, il serait important de rechercher des cas de paragonimose humaine rétrospectivement par le réexamen des échantillons d'expectorations colorés par la technique de Ziehl-Neelsen et maintenus dans les centres antituberculeux. En effet, des études récentes ont montré que les œufs de *Paragonimus* ne sont pas détruits par la technique de coloration de Ziehl-Neelsen largement utilisée pour le diagnostic de la tuberculose pulmonaire.

Il importe aussi que d'autres études soient entreprises sur le plan chimique afin de mieux cerner le risque sanitaire lié à la consommation des crabes et des crevettes vendus sur les marchés en Côte d'Ivoire. Au plan chimique, il serait nécessaire de contrôler par exemple les taux d'histamine, de pesticides et de perturbateurs endocriniens tels que le PCB (PolyChoroBiphényl) dans les crustacés.

Les poissons vendus sur les marchés en Côte d'Ivoire pourraient constituer une bonne matrice pour la recherche de polluants chimiques, de trématodes et de nématodes d'intérêt pour la santé publique mais aussi pour la recherche de bactéries potentiellement pathogènes pour l'homme.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Acuna M.T., Diaz G., Bolanos H., Barquero C., Sanchez O., Sanchez L.M., Mora G., Chaves A., Campos E., 1999.** Sources of *Vibrio mimicus* contamination of turtle eggs. *Appl Environ Microbiol.* 65: 336–338.
- Adingra AA., Guiral D., Arfi R., 1997.** Impact of lagoonal bacterial pollution on an aquacultural bacterial site (Ebrie lagoon, Côte d'Ivoire), *African inland fisheries aquaculture and environment*, FAO. 207-220.
- Adoubryn K., Ouhon J., Assoumou A., Kassi E., Koné M., Therizol-Fleury M., 1999.** Champignons et parasites isolés dans 142 liquides d'aspiration bronchique à Abidjan (Côte d'Ivoire). *Med Afr Noire.* 46:362-365.
- AFSCA, 2005.** Terminologie en matière d'analyse des dangers et des risques selon le *Codex Alimentarius*. AFSA. p. 46.
- Agatsuma T., Hirai H., 2005.** Genetic variation of *Paragonimus* species. In: Arizono, N., Chai, J.Y., Nawa Y., and Takahashi, Y., eds. *Asian Parasitology*, Vol. 1: Food-Borne Helminthiasis in Asia (pp. 155–165). Japan: FAP Journal.
- Ahl A.S., Acree J.A., Gipson P.S., Mc Dowell R.M., Miller L., Mc Elvaine M.D., 1993.** Standardization of nomenclature for animal health risk analysis. *Rev. Sci. Tech. Off. Int.Epiz.* 12: 1045-1053.
- Aka N.A., Assoumou A., Adoubryn K.D., Djino S., Domoua K., Ouhon J., Kouassi E.B., Rondelaud D., Dreyfuss G., 2009.** Un nouveau foyer de paragonimose humaine découvert en Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest): le cas de l'île de Lauzoua. *Med Trop.* 69:263-266.
- Aka N.A., Adoubryn K.D., Rondelaud D., Dreyfuss G., 2008 c.** Human paragonimiasis in Africa. *Ann Afr Med.* 7:153-162.
- Aka N.A., Assoumou A., Adoubryn K.D., Djino S., Domoua K., Ouhon J., Kouassi E.B., Rondelaud D., Dreyfuss G., 2008 b.** Persistance d'un foyer de paragonimose dans le département de Lakota, Côte d'Ivoire (Afrique de l'Ouest). *Bull Soc Pathol Exot.* 101:407-409.
- Aka N.A., Assoumou A., Adoubryn K.D., Domoua K., Kouadio F., Moyou-Somo R., Nakamura-Uchiyama F., Nawa Y., Rondelaud D., Dreyfuss G., 2008 a.** First findings on the seroepidemiology of human Paragonimosis at the anti-tuberculosis centre of Divo, Republic of Ivory Coast (West Africa). *Parasite.* 15:157-161.

- Aka N.A., Allabi A.C.E., Dreyfuss G., Kinde-Gaza D., Tawo L., Rondelaud D., Bouteille B., Avpdé G., Anonou S.Y., Gninafon M., Massougbojji A., Dumas M., 1999.** Observations épidémiologiques sur le premier cas de paragonimose humaine et les hôtes intermédiaires potentiels de *Paragonimus sp.* au Bénin. *Santé. Publique.* 2017 : p. 4.
- Aka K., Tchamra M., Fadiga D., Yapi A., 1995.** Paragonimose pulmonaire: une cause d'hémoptysie. *Afr Bio-Med.* 1:29-31.
- Akin-Oriola G., Anetekhai M., Olowonirejuaro K., 2005.** Morphometric and Meristic Studies in Two Crabs: *Cardiosoma armatum* and *Callinectes pallidus*. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences.* 5: 85-89.
- Albaret J.J., Laë R., 2003.** Impact of fishing on fish assemblages in tropical lagoons: the example of the Ebrie lagoon, West Africa. *Aquat. Living Resour.* 16: 1-9.
- Ancha P.N., Szifres B., 1989.** Zoonoses et maladies transmissibles communes à l'homme et aux animaux. Paris : Office International des Epizooties, deuxième édition. p. 756.
- Anonyme 2, 2006 a.** Crevetticulture durable en Afrique de l'Ouest : Opportunités économiques et coopération Sud-Sud. Table ronde régionale Conakry (Guinée). *Rapport de réunion.* p 28.
- Anonyme 4, 2006 b.** Détection des espèces de *Vibrio* halophiles et de *Vibrio cholerae* dans les fruits de mer. *Procédure de laboratoire MFLP-37.* p. 28.
- Anonyme 1, 2005.** Morocco foodborne disease outbreaks, searchable data. Yearly Reports 2000, 2001, 2002, 2003, 2004.
- Anonyme 3, 1997.** Code zoo-sanitaire des épizooties de l'OIE. Analyse du risque à l'importation. 141:23-34.
- Arene F.O.I., Ibanga E.S., Asor J.E., 1999.** Freshwater snail and crab intermediate hosts of *Paragonimus* species in two rural communities in Cross River basin, Nigeria. *Global J. Pure Appl. Sci.* 5:184-187
- Arene F.O., Ibanga E., Asor J.E., 1998.** Epidemiology of paragonimiasis in Cross River basin, Nigeria: prevalence and intensity of infection due to *Paragonimus uterobilateralis* in Yakurr local government area. *Public Health.* 112:119-122.

- Arimoro F. O., Idoro B. O., 2007.** Ecological Studies and Biology of *Callinectes amnicola* (Family: Portunidae) in the Lower Reaches of Warri River, Delta State, Nigeria. *World Journal of Zoology*. 2: 57-66.
- Asor J.E., Ibanga E.S., Arene F.O. I., 2003.** The Epidemiology of Pulmonary Paragonimiasis in Cross River Basin in Nigeria: Update on infection prevalence and distribution of the snail and crab intermediate hosts. *Jnl of Medicine*. 3: 5-12
- Bakhshi P., Trani J.F., 2007.** La conduite d'enquête auprès des personnes handicapées en Afghanistan : défis d'un terrain et réponses méthodologiques. *STATECO*. 101: 81-98.
- Bean N.H., Maloney E.K., Potter M.E., Korazemo P., Ray B., Taylor J.P., Seigler S., Snowden J., 1998.** Crayfish : a newly recognized vehicle for *Vibrio* infections. *Epidemiol Infect.* 121:269-73.
- Bej A.K., Patterson D.P., Brasher C.W., Vickery M.C.L., Jones D.D., Kaysner C.A., 1999.** Detection of total and hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish using multiplex PCR amplification of tl, tdh and trh. *J. Microbiol. Meth.* 36:215-225.
- Bhanumathi R., Sabeena F., Isac S.R., Shukla B.N., Singh D.V., 2003.** Molecular characterization of *Vibrio cholerae* O139 Bengal isolated from water and the aquatic plant *Eichhornia crassipes* In the river Ganga, Varanasi, India. *Appl Environ Microbiol.* 69: 2389-2394.
- Bioforma, 2003.** Mycobactéries et mycobactériose. *Cahier de Formation en Biologie Médicale*. 29:1-157.
- Blair D., Agatsuma T., Wang W., 2007.** Paragonimiasis. Food-Borne Parasitic Zoonoses *World Class Parasites*. 11: 117-150.
- Blair D., Xu Z.B., Agatsuma T., 1999.** Paragonimiasis and the genus *Paragonimus*. *Adv Parasitol.* 42:113-222.
- Blake P.A., Allegra D.T., Snyder J.D., 1980.** Cholera - a possible epidemic focus in the United States. *N. Engl. J. Med.* 302:305-309.
- Bodin N., 2005.** Contamination des crustacés décapodes par les composés organohalogénés. Etude détaillée de la bioaccumulation des PCB chez l'araignée de mer *Maja brachydactyle*. Thèse de doctorat à l'université de Bretagne occidentale France. p. 148.

- Bonfoh B., 2010.** Valeur ajoutée de la participation dans l'analyse de risques des aliments à l'intersection des secteurs formel et informel. *RASPA*. 8 : 1-2.
- Bonnard R., 2001.** Le risque biologique et la méthode d'évaluation du risque. *Rapport final de l'unité évaluation des risques sanitaires directions des risques chroniques*. p. 70.
- Bossé D., 1984.** Endémicité et parasitoses autochtones en Afrique noire: à propos d'un foyer insolite de distomatose pulmonaire en Côte d'Ivoire. *Thèse de Doctorat 3^e cycle à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc, Montpellier France*. p. 112.
- Brauns L.A., Hudson M.C., Oliver J.D., 1991.** Use of the polymerase chain reaction in detection of culturable and non-culturable *Vibrio vulnificus* cells. *Appl. Environ. Microbiol.* 57:2651-2655.
- Bremner H.A., Olley J. et Vail, A.M.A., 1987.** Estimating time-temperature effects by a rapid systematic sensory method. In seafood quality determination. Eds : D. Kramer and J. Liston. *Elsevier science publishers*. 413-435.
- Bross M.H., Soch K., Morales R., Mitchell R.B., 2007.** *Vibrio vulnificus* infection: diagnosis and treatment. *Am Fam Physician*. 76:539-44.
- Brumpt E., 1949.** *Précis de parasitologie*. Tome I. Sixième édition. Masson et Cie, Paris. 1949. 1042 p.
- Butt A.A., Aldridge K.E., Sanders C.V., 2004.** Infections related to the ingestion of seafood. Part I: viral and bacterial infections. *Lancet Infec Dis*. 4: 201-212.
- Campos E., Bolanos H., Acuna M.T., Diaz G., Matamoros M.C., Raventos H., Sanchez L.M., Sanchez O., Barquero C., 1996.** *Vibrio mimicus* diarrhea following ingestion of raw turtle eggs. *Appl Environ Microbiol.* 62: 1141-1144.
- Cartes J.E., Fanelli E., Papiol V., Maynou F., 2010.** Trophic relationships at intrannual spatial and temporal scales of macro and megafauna around a submarine canyon off the Catalan coast (western Mediterranean). *J. Sea Res.* 63: 180-190.
- Castro-Rosas J., Escartin E.F., 2002.** Adhesion and colonization of *Vibrio cholerae* O1 on shrimp and crab carapaces. *J. Food Prot.* 65:492-498.
- Cerf O., Sanaa M., Dufour B., Toma B., 1996.** Nomenclature proposée pour l'analyse de risque en santé humaine et animale. *Epidémiol. et santé anim.* 30: 35-43.

- Charles-Dominique E., Hem S., 1981.** Biologie et pêche des crabes du genre *Callinectes* Stimpson, 1860 (Decapodes, portunidae) en lagune Ebrié (Côte d'Ivoire). Résultats préliminaires. *Doc sci. Centre rech-océanogr.* 12: 95-121.
- Chen Y., Johnson J.A., Pusch G D., Morris Jr J G., Stine O.C., 2007.** The genome of non- O1 *Vibrio cholerae* NRT36S demonstrates the presence of pathogenic mechanisms that are distinct from O1 *Vibrio cholerae*. *Infect Immun.* 75:2645-7.
- China B., De Schaetzen M.A., Daube G., 2003.** Les mollusques bivalves, des aliments dangereux ? *Ann. Méd. Vét.* 147:413-422.
- Choi J.H., Lee J.H., Yu H.S., Jeong H.J., Kim J., Hong Y.C., Kong H.H., Chung D.I., 2006.** Molecular and biochemical characterization of hemoglobinase, a cysteine proteinase, in *Paragonimus westermani*. *Korean J Parasitol.* 44: 187-196.
- Chun J., Huq A., Colwell R., 1999.** Analysis of 16S-23S rRNA Intergenic Spacer Regions of *Vibrio cholerae* and *Vibrio mimicus*. *Appl Environ Microbiol.* 65:2202-2208.
- Codex Alimentarius Commission, 2007.** Principes de travail pour l'analyse des risques en matière de sécurité sanitaire des aliments destinés à être appliqués par les gouvernements *Codex Alimentarius : Roma.* p. 5.
- Codex Alimentarius Commission, 2003.** Principles and guidelines for the conduct of microbiological risk assesment. *Roma FAO.*
- Cohen N., Ennaji H., Hassar M., Karib H., 2006.** The Bacterial quality of red meat and offal in Casablanca (Morocco). *Mol. Nutr. Food Res.* 50: 557-562.
- Cohen N., Karib H., 2007.** *Vibrio* spp. dans les produits de la pêche: Risques et prévention. *Les Technologies de Laboratoire.* 3:4-10.
- Cohen N., Karib H., Ait Saïd J., Lemee L., Guenole A., Quilici M.L., 2007.** Prévalence des vibrions potentiellement pathogènes dans les produits de la pêche commercialisés à Casablanca (Maroc). *Rev. Méd. Vét.* 158:562-568.
- Collet J. P., Récopé S., Dreyfuss G., Dardé M L., 2012.** Les distomatoses et leur diagnostic au laboratoire. *Revue Francophone des Laboratoires.* 42 :57-66.
- Cook D.W., Oleary P., Hunsucker J.C., Sloan E.M., Bowers J.C., Blodgett R.J., Depaola A., 2002.** *Vibrio vulnificus* and *Vibrio parahaemolyticus* in U.S. retail shell oysters: a national survey from June 1998 to July 1999. *J. Food Protect.* 65:79-87.

- Cornejo W., Huiza A., Espinoza Y., Alva P., Sevilla C., Centurion W., 2000.** Paragonimosis in the Cajabamba and Condebamba districts, Cajamarca, Peru. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*. 42:245-7.
- Cormier-Salem M.C., 1999.** Rivières du Sud. Sociétés et mangroves ouest-africaines. *IRD, Paris*.1: p 395.
- Covello V.T., Merkhoffer M.W., 1993.** Risk Assessment Methods. Approaches for Assessing Health and Environmental Risks. *Plenum Press, New York*.
- Covello V.T., 1992.** Risk communication : an emerging area of health communication research. *Communication yearbook*. 15:353-359.
- Crepet A., 2007.** Statistique Bayésienne et Monté-Carlo de second ordre pour l'évaluation des risques microbiologiques. Le cas de *Listeria monocytogenes* dans les produits de quatrième gamme. *Thèse de l'institut des sciences et industries du vivant et de l'environnement (Agro Paris Tech). Ecole doctorale ABIES*. p. 258.
- Defelice R.C., Eldredge L.G., Carlton V.T., 2001.** Non-indigenous invertebrates. Eldredge L.G, and C.Smith, coordinators, Guidebook to the introduced marine species in Hawaiian waters. Bishop Museum. *Technical Report*. 21: 217-274.
- Desalme A., Quilliot D., Ziegler O., 2004.** Les catégories d'aliments. *Cah. Nutr. Diét*. 39:217-228.
- Diop M.B., Destain J., Tine E., Thonart P., 2010.** Les produits de la mer au Sénégal et le potentiel des bactéries lactiques et des bactériocines pour la conservation. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*. 14: 341-350.
- Doanh P.N., Shinohara A., Horii Y., Habe S., Nawa Y., The D. T., Le N. T., 2007.** Morphological and molecular identification of two *Paragonimus* spp. of which metacercariae concurrently found in a land crab, *Potamiscus tannanti*, collected in Yenbai Province, Vietnam. *Parasitol Res*. 100:1075-1082.
- Doanh P.N., Le N.T., The D.T., 2005.** *Paragonimus* and paragonimiasis in Vietnam. In Arizono, N., Chai, J.Y., Nawa, Y., and Takahashi, Y., eds. Asian Parasitology; Vol 1: Food-Borne Helminthiasis in Asia (pp. 149–153). *Japan: FAP Journal*.
- Donnelly J.P., Woodruff J.D., 2007.** Intense hurricane activity over the past 5,000 years controlled by El Nino and the West African monsoon. *Nature*. 447: 465-8.

- Doquin O., 2004.** Révision des paramètres de croissance de la crevette *Penaeus subtilis* et étude de la faisabilité d'un modèle ECOPAH de l'écosystème du littoral Guyanais. *IFREMER*. p. 57.
- Duraiappah A.K., Roddy P.V., Parry J.E., 2005.** Have participatory approaches increased capabilities? IISD Publications Centre. *International Institute for Sustainable Development, UK.*
- Ekra K.D., Attoh-Touré H., Béné B.V.J., Coulibaly D., Koutouan M.G., Aka L.N., Dagnan S.N., Coulibaly A., Douba A., Tiembré I., Odéhour-Koudou P., Tagliante-Saracino J., 2009.** Five years of cholera surveillance in Côte d'Ivoire during social and political crisis, 2001 to 2005. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 102:107-109.
- FAO, 2011.** Annuaire Statistiques des pêches et de l'aquaculture 2009. **Rome, FAO.** p. 78.
- FAO, 2008.** Vue générale du secteur des pêches nationales, la république de Côte d'Ivoire. Les profils des pêches et de l'aquaculture par pays. *FAO.* p. 43.
- FAO, 2004.** Informations sur l'aménagement des pêches dans la république de Côte d'Ivoire. <http://www.fao.org/fi/oldsite/FCP/fr/civ/body.htm>. Consulté le 30 décembre 2011.
- FAO, 1997.** Gestion des risques et salubrités des aliments. *Rapport consultation Mixte FAO/OMS.* p 38.
- FAO, 1979.** Nutrition humaine en Afrique tropicale M.C. Latham, O.B.E, *FAO.* p 291.
- FAO/OMS, 2005.** Système national de sécurité sanitaire des aliments et ses impacts socio-économiques et sanitaires. *FAO/OMS.* p. 6.
- FAO/OMS, 2002.** Forum mondial des responsables de la sécurité sanitaire des aliments. Marrakech, Maroc , *FAO/OMS.* pp. 1-223.
- Farama E., Lesne J., Tournon A., Wallet F., 2008.** Vibrions non cholériques dans les eaux littorales et les produits de la mer : caractérisation des expositions humaines. *Environnement, Risques & Santé.* 7 :191-201.
- Faruque S.M., Mekalanos J.J., 2003.** Pathogenicity islands and phages in *Vibrio cholerae* evolution. *Trends Microbiol.* 11:505-510.
- Faruque S.M., Nair G.B., 2002.** Molecular ecology of toxigenic *Vibrio cholerae*. *Microbiol Immunol.* 46: 59-66.

- Faruque S.M., Rahman M.M., Waldor M.K., Sack D. A., 2000.** Sunlight-induced propagation of the lysogenic phage encoding cholera toxin. *Infect Immun.* 68: 4795-801.
- FDA, 2005.** The *Vibrio parahaemolyticus* Risk Assessment Team, FDA. Quantitative risk assessment on the public health impact of pathogenic *Vibrio parahaemolyticus* in raw oysters. College Park:U. S. Food and Drug Administration, Center for Food Safety and Applied Nutrition.p 140.
- Feldhusen F., 2000.** The role of seafood in bacterial foodborne diseases. *Microbes Infect.* 2: 1651-1660.
- Festy B., Hartemann P., Ledrans M., Levallois P., Payment P., Tricard D., 2003.** Qualité de l'eau. In: Environnement et santé publique-Fondements et pratiques. pp. 333-368.
- Fischer W., Bianchi G., Scott W.B., 1981.** FAO species identification sheets for fisheries purposes. Eastern Central Atlantic ; fishing areas 34 and part of 47. *Ottawa, FAO.* 6: p304.
- Fields P.I., Popovic T., Wachsmuth K., Olsvik O., 1992.** Use of polymerase chain reaction for detection of toxigenic *Vibrio cholerae* O1 strains from the Latin American cholera epidemic. *J. Clin. Microbiol.* 30:2118-2121.
- Fournier J.M., Quilici M.L., 2002.** Infections à vibrions non cholériques. *Encycl. Méd. Chir.* (éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris, tous droits réservés), *Maladies Infectieuses*.8-026-F15.
- Frank C., Littman M., Alpers K., Hallauer J., 2006.** *Vibrio vulnificus* wound infections after contact with the Baltic Sea, Germany. *Euro Surveill.* 11:p.1.
- Glinz D., Silué K.D., Knopp S., Lohourignon L.K., Yao K.P., Steinmann P., Rinaldi L., Cringoli G., N'Goran E.K., Utzinger J., 2010.** Comparing diagnostic accuracy of Kato-Katz, Koga agar plate, ether-concentration, and FLOTAC for *Schistosoma mansoni* and soil-transmitted helminths. *PLoS Negl Trop Dis.* 4:e754.
- Gonzalez-Escalona N., Blackstone G.M., Depaola A., 2006.** Characterization of a *Vibrio alginolyticus* strains, isolated from Alaskan oysters, carrying a hemolysin gene similar to the thermostable direct hemolysin-related hemolysin gene (*trh*) of *Vibrio parahaemolyticus*. *Appl Environ Microbiol.* 72:7925-9.

- Grace D., Makita K., Kang'ethe E.K., Bonfoh B., 2010.** Safe Food, Fair Food: Participatory Risk Analysis for improving the safety of informally produced and marketed food in sub Saharan Africa. *RASPA*. 8:3-11.
- Grace D., Randolph T., Olawoye J., Dipelou M., Kang'ethe E.K., 2008.** Participatory risk assessment: a new approach for safer food in vulnerable African communities. *Development in Practice*.18: 611-618.
- Guillermain D.H., 1981.** Paragonimose en Afrique. A propos d'un cas Gabonais de paragonimose chez un enfant. *Thèse de médecine faculté de médecine: Université de Clermont I*.
- Haas C.N., Rose J.B., Gerba C.P., 1999.** *Quantitative Microbial Risk Assessment*, Wiley, New York.
- Hara-Kudo Y., Sugiyama K., Nishibuchi M., Chowdhury A., Yatsuyanagi J., Ohtomo Y., Saito A., Nagano H., Nishina T., Nakagawa H., Konuma H., Miyahara M., Kumagai S., 2003.** Prevalence of pandemic thermostable direct hemolysin-producing *Vibrio parahaemolyticus* 03:K6 in seafood and the coastal environment in Japan. *Appl. Environment. Microbiol.* 69:3883-3891.
- Haro L., 2008.** Intoxications par les organismes aquatiques. *Med Trop.* 68 : 367-374.
- Harris J.B., Larocque R.C., Charles R.C., Mazumder R.N., Khan A.I., Bardhan P.K., 2010.** Cholera's western front. *Lancet*. 376: 1961-1965.
- Heidelberg J.F., Eisen J.A., Nelson W.C., Clayton R.A., Gwinn M.L., Dodson R.J., Haft D.H., Hickey E.K., Peterson J.D., Umayam L., Gill S.R., Nelson K.E., Read T.D., Tettelin H., Richardson D., Ermolaeva M.D., Vamathevan J., Bass S., Qin H., Dragoi I., Sellers P., McDonald L., Utterback T., Fleishmann R.D., Nierman W.C., White O., Salzberg S.L., Smith H.O., Colwell R.R., Mekalanos J.J., Venter J.C., Fraser C.M., 2000.** DNA sequence of both chromosomes of the cholera pathogen *V. cholerae*. *Nature*. 406: 477-83.
- Herrington D.A., Hall R.H., Losonsky G., Mekalanos J.J., Taylor R.K., Levine M.M., 1988.** Toxin, toxin-coregulated pili and the *toxR* regulation are essential for *Vibrio cholerae* pathogenesis in humans. *J. Exp. Med.* 168, 1487-1492.

- Hervio-Heath D., Colwell R.R., Derrien A., Robert-Pillot A., Fournier J.M., Pommepuy M., 2002.** Occurrence of pathogenic vibrios in coastal areas of France. *J Appl Microbiol.* 92: 1123-35.
- Hiyoshi H., Kodama T., Iida T., Honda T., 2010.** Contribution of *Vibrio parahaemolyticus* virulence factors to cytotoxicity, enterotoxigenicity and mice lethality. *Infect Immun.* 78:1772-80.
- Huss H.H., 1996.** Assurance de qualité des produits de la mer. FAO. *Document Technique sur les Pêches.* No. 334. Rome. FAO. p.186.
- Inoue Y., Ono T., Matsui T., Miyasaka J., Kinoshita Y., Ihn H., 2008.** Epidemiological survey of *V. vulnificus* infection in Japan between 1999 and 2003. *J Dermatol.* 35: 129-39.
- Institut National de la Statistique, Côte d'Ivoire., 1998.** Synthèse des résultats définitifs du Recensement Général de la Population et de l'Habitat (RGPH-98). p. 32.
- Jeon K., Koh W.J., Kim H., Kwon O., Jung., Kim T.S., Lee K.S., Han J., 2005.** Clinical Features of Recently Diagnosed Pulmonary Paragonimiasis in Korea. *Chest.* 128:1423-1430.
- Jones M.K., Olivier J.D., 2009.** *Vibrio vulnificus*: disease and pathogenesis. *Infect Immun.* 77:1723-33.
- Jutla A.S., Akanda A.S, Griffiths J.K., Colwell R., Islam S., 2011.** Warming oceans, phytoplankton, and river discharge: implications for cholera outbreaks. *Am J Trop Med Hyg.* 85: 303-308.
- Katz N., Chaves A., Pellegrino J., 1972.** A simple device for quantitative stool thick-smear technique in schistosomiasis mansoni. *Rev Inst Med Trop São Paulo.* 14:397-400.
- Kaur T., Ganguly N.K., 2003.** Modulation of gut physiology through enteric toxins. *Mol. Cell. Biochem.* 253: 15-19.
- Keiser J., Utzinger J., 2009.** Food-borne trematodiasis. *Clin Microbiol Rev.* 22:466-483.
- Keiser J., Utzinger J., 2005.** Emerging foodborne trematodiasis. *Emerg Infect Dis.* 11:1507-1514.
- Keiser J., N'Goran E.K., Traore M., Lohourignon K.L., Singer B.H., Lengeler C., Tanner M., Utzinger J., 2002.** Polyparasitism with *Schistosoma mansoni*, geohelminths, and intestinal protozoa in rural Côte d'Ivoire. *J Parasitol.* 88:461-466.

- Kim Y.B., Okuda J., Matsumoto C., Takahashi N., Hashimoto S., Nishibuchi N., 1999.** Identification of *Vibrio parahaemolyticus* strains at the species level by PCR targeted to the *toxR* gene. *J. Clin. Microbiol.* 37: 1173–1177.
- Knopp S., Mgeni A.F., Khamis I.S., Steinmann P., Stothard J.R., Rollinson D., Marti H., Utzinger J., 2008.** Diagnosis of soil-transmitted helminths in the era of preventive chemotherapy: effect of multiple stool sampling and use of different diagnostic techniques. *PLoS Negl Trop Dis.* 2:e331.
- Konan M.K., Ouattara A., Adepo-Gourene A.B., Gourene G., 2008.** Morphometric differentiation between two sympatric *Macrobrachium* Bates 1868 shrimps (Crustacea Decapoda Palaemonidae) in West-African rivers. *J. Nat. Hist.* 42: 2095-2115.
- Kouassi P. A., 2010.** « Stratégies comparées de l'exploitation des plans d'eau lagunaire de Côte-d'Ivoire », *Les Cahiers d'Outre-Mer*, 251 | Juillet-Septembre, [En ligne]. URL : <http://com.revues.org/index6038.html>. Consulté le 30 décembre 2011.
- Kouassi A.M., Guiral D., Dosso M., 1992.** Ecology of halophilic *Vibrio* in an eutrophic tropical estuary. *Rev. Int. Océanogr. Méd.* 107-108:24-39.
- Koussémon M., Traoré S.G., Koffi-Nevry R., Ouffoue S.K., Kamenan A., 2008.** Etude de la qualité microbiologique d'une espèce tropicale de crabe: *Callinectes amnicola*. *Tropicultura.* 26:169-172.
- Lawal-Are A.O., Kusmiju R., 2000.** Size composition growth pattern and feeding habits of the blue crab, *Callinectes amnicola* (de Mele). In the Badagry lagoon, Nigeria. *J. Sci. Res. Dev.* 4: 117-126.
- Lebres E.A., 2006.** Etude de prévalence et analyse du risque de *Listeria monocytogenes* dans les laits crus dans la région du centre. *Thèse doctorale en sciences vétérinaires option microbiologie. Institut des sciences vétérinaires, centre universitaire d'El Tarf d'Algérie.* p. 168.
- Lee C.Y., Cheng M.F., Yu M.S., Pan M.J., 2002.** Purification and characterization of a putative virulence factor, serine protease, from *V. parahaemolyticus*. *FEMS Microbiol Lett.* 209:31-7.
- Lee C.Y., Pan S.F., Chen C.H., 1995.** Sequence of a cloned pR72H fragment and its use for detection of *Vibrio parahaemolyticus* in shellfish with the PCR. *Appl. Environ. Microbiol.* 61:1311-1317.

- Le Loeuff P., Zabi G.S.F., 1993.** Revue des connaissances sur la faune benthique des milieux margino-littoraux d'Afrique de l'Ouest. Troisième partie : discussion et conclusions. *Rev. Hydrobiol. Trop.* 26: 127-137.
- Lencer W.I., Tsai B., 2003.** The intracellular voyage of cholera toxin: going retro. *Trends Biochem Sci.* 28: 639-45.
- Leroi F., 2009.** Bactéries lactiques et applications alimentaires. Partie 2 : les produits de la mer. In "Physiologie, Métabolisme, Génomique et Applications Industrielles des bactéries lactiques. Chapter V. pp. 459-474.
- Lévêque C., Déjoux C., Iltis A., 1983.** Limnologie du fleuve Bandama, Côte d'Ivoire. *Hydrobiologia.* 100:113–141.
- Lhomme F., 1994.** Les crustacés exploitables. In : Durand Jean-Réné (ED.), Dufour Philippe (ED.), Guiral Daniel (ED.), Zabi S.G.F. (ed.) Environnement et ressources aquatiques en Côte d'Ivoire : 2. Les milieux lagunaires. Paris : ORSTOM. pp. 229-238.
- Mamadou K., Dramane D., Karim T.S., Ardjouma D., Houenou P.V., 2008.** Comparison of trace element contamination levels (Cu, Zn, Fe, Cd and Pb) in the soft tissues of the gastropods *Tympanotonus fuscatus fuscatus* and *Tympanotonus fuscatus radula* collected in the Ebrié Lagoon (Côte d'Ivoire): Evidence of the risks linked to lead and cadmium. *Afr. J. Biotech.* 7: 811-820.
- Manning R.G., Holthius L.B., 1981.** West African brachyuran Crabs (Crustacea Decapoda). Smith. *Contrib of Zoology.* 360: p. 379.
- Marti H., Escher E., 1990.** SAF--an alternative fixation solution for parasitological stool specimens. *Schweiz Med Wochenschr.* 120: 1473–1476.
- Matsumoto C., Okuda J., Ishibashi M., Iwanaga M., Garg P., Rammamurthy T., Wong H.C., Depaola A., Yung Bu Kim Y.B., M. John Albert M.J., Mitsuaki Nishibuchi M., 2000.** Pandemic spread of an O3:K6 clone of *Vibrio parahaemolyticus* and emergence of related strains evidenced by arbitrarily primed PCR and tox RS sequence analyses. *J Clin Microbiol.* 38:578-85.
- Métongo B.S., Gbocho G.B., 2007.** Accumulation biologique de quelques oligo- éléments (Cd, Cu, Mn, Zn) chez le mollusque Bilave *Arca Senilis*. *J. Ivoir. Océanol. Limnol. Abidjan.* 4: 11-21.

- Miserey B., 2005.** Les crustacés. Commission départementale de biologie sous-marine de L'oise. *FFESSM*. p 7.
- Miyazaki I., 1991.** Paragonimiasis. In: An Illustrated Book of Helminthic Zoonoses, Miyazaki I (ed) *International Medical Foundation of Japan, Tokyo*. pp. 76-146.
- Moyou-Somo R., Kefie-Arrey C., Dreyfuss G., Dumas M., 2003 a.** An epidemiological study of pleuropulmonary paragonimiasis among pupils in the peri-urban zone of Kumba town, Meme Division, Cameroon. *BMC Public Health*. 3:40-3.
- Moyou-Somo R., Tagni-Zukam D., 2003 b.** Paragonimiasis in Cameroon: Clinico radiological features and treatment outcome. *Med Trop*. 63:163-167.
- Moyou-Somo R., Simo G G., 1995.** Paragonimiasis in southwest Cameroon: isolation of microcercous cercariae from land snails caught in a *Paragonimus africanus* endemic zone. *Wild Environ Med*. 6:44-47.
- Moyou-Somo R., Enyong P., Kouamouo J., Dinga J.S., Couprie B., Ripert C., 1983.** Etude de la paragonimose dans cinq départements de la Mémé (Sud-ouest du Cameroun). Résultats du traitement par le praziquantel. *Rev Sci Tech (Yaoundé)*. 6:125-129.
- Mukae H., Taniguchi H., Matsumoto N., Iiboshi H., Ashitani J., Matsukura S., Nawa Y., 2001.** Clinicoradiologic features of pleuropulmonary *Paragonimus westermani* on Kyusyu Island, Japan. *Chest*. 120:514-520.
- Mutreja A., Kim D.W., Thomson N.R., Connor T.R., Lee J.H., Kariuki S., Croucher N.J., Choi S.Y., Harris S.R., Lebens M., Niyogi S.K., Kim E.J., Ramamurthy T., Chun J., Wood J.L., Clemens J.D., Czerkinsky C., Nair G.B., Holmgren J., Parkhill J., Dougan G., 2011.** Evidence for several waves of global transmission in the seventh cholera pandemic. *Nature*. 477: 462-465.
- Nakamura-Uchiyama F., Mukae H., Nawa Y., 2002.** Paragonimiasis: a Japanese perspective. *Clin Chest Med*. 23:409-420.
- Nauta M.J., 2001.** A modular process risk model structure for quantitative microbiological risk assessment and its application in an exposure assessment of *Bacillus cereus* in a REPFED. *National Institute of Public Health and the Environment: Bilthoven*. p. 100.
- Nawa Y., Hatz C., Blum J., 2005.** Sushi Delights and Parasites: The Risk of Fishborne and Foodborne Parasitic Zoonoses in Asia. *Clinical Infectious Diseases*. 41:1297-303

- Ndozi A.A.C., 2000.** Observation clinique et épidémiologique du premier cas de paragonimose humain au Congo Brazzaville [*Thèse ph.*]. *UFR Sciences Pharmaceutiques : Université Bordeaux II*. France. Numéro 46.
- Ng P.K.L., Davie P.J.F., Guinot D., 2008.** *Systema Brachyurorum*: Part 1. An Annotated checklist of extant Brachyuran crabs of the world. *The Raffles Bulletin of Zoology, supplement series*. 17: 1-286.
- N’Goran E.K., Utzinger J., Gnaka H.N., Yapi A., N’Guessan N.A., Silué K.D., Lengeler C., Chollet J., Xiao S.H., Tanner M., 2003.** Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of oral artemether for the prevention of patent *Schistosoma haematobium* infections. *Am J Trop Med Hyg*. 68:24-32.
- Nicolas D., 2009.** Analyse des risques appliquée sur les contaminants. Service de la sécurité des aliments. La sécurité dans mon assiette. p. 28.
- Nkouawa A., Okamoto M., Mabou A.K., Edinga E., Yamasaki H., Sako Y., Nakao M., Nakaya K., Blair D., Agatsuma T., Enyong P., Shibahara T., Moyou-Somo R., Ito A., 2009.** Paragonimiasis in Cameroon: molecular identification, serodiagnosis and clinical manifestations. *Trans R Soc Trop Med Hyg*. 103:255-261.
- Nozais J.P., Datry A., Danis M., 1996.** Traité de parasitologie médicale. *Pradel. Paris*. p. 817.
- Nwokolo C., 1972.** Outbreak of paragonimiasis in Eastern Nigeria. *Lancet*. 1: 32-33.
- N’Zi G.K., Gooré B.G., Kouamélan E.P., Koné T., N’Douba V., Ollevier F., 2008.** Influence des facteurs environnementaux sur la répartition spatiale des crevettes dans un petit bassin ouest africain – rivière Boubo –Côte d’Ivoire. *Tropicultura*. 26:17-23
- Odermatt P., Habe S., Manichanh S., Tran D.S., Duong V., Zhang W., Phommathet K., Nakamura S., Barennes H., Strobel M., Dreyfuss G., 2007 a.** Paragonimiasis and its intermediate hosts in a transmission focus in Lao People's Democratic Republic. *Acta Trop*. 103:108-115.
- Odermatt P., Veasna D., Zhang W., Vannavong N., Phommala S., Habe S., Barennes H., Strobel M., 2009.** Rapid identification of paragonimiasis foci by lay informants in Lao People's Democratic Republic. *PLoS Negl Trop Dis*. 3:e521.
- Odermatt P., Nanthaphone S., Barennes H., Chanthavysouk K., Tran D.S., Kosanouvong B., Keola S., Mathouchanh P., Choumlivong K., Keoluangkhot V.,**

- Phoumindr Niranh P., Nanthanavone S., Phommala S., Degrémont A., Strobel M., 2007 b.** Improving tuberculosis case detection rate with a lay informant questionnaire: an experience from the Lao People's Democratic Republic. *Bull World Health Organ.* 85:727-731.
- Olsvik O., Wahlberg J., Petterson B., Uhlen M., Popovic T., Wachsmuth I.K., Fields P.I.J., 1993.** Use of automated sequencing of polymerase chain reaction-generated amplicons to identify three types of cholera toxin subunit B in *Vibrio cholerae* O1 strains. *J.Clin. Microbiol.* 31: 22-25.
- OMS, 2011 a.** Cholera Key facts. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs107/en/index.html>. Consulté le 9 octobre 2011.
- OMS, 2011 b.** Cholera, 2010. *Weekly epidemiological record.* pp. 325-340.
- OMS, 2007.** La sécurité alimentaire et toxi-infections alimentaires. Aide mémoire. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs237/en/>. Consulté le 9 octobre 2011.
- OMS, 2003.** Guidelines for safe recreational water environments. Volume 1:Coastal and fresh waters. *Geneva: OMS.* p. 253.
- OMS, 2000.** Choléra en 1999. *Relevé épidémiologique hebdomadaire.* 75:249-56.
- OMS, 1995.** Application de l'analyse des risques dans le domaine des normes alimentaires. *O M S: Geneve.* p. 39.
- OMS, 1991.** Manuel d'épidémiologie pour la gestion de la santé au niveau du district, Jouve (Eds.), p. 187.
- OMS, 1982.** Manuel des techniques de base pour le laboratoire médical. *World Health Organization, Geneva.*
- OMS, 1977.** Manuel d'hygiène des fruits de mer. *OMS publication offset.* 31: p. 86.
- OMS/FAO, 2004.** Joint WHO/FAO workshop on food-borne trematode infections in Asia, Hanoi, Vietnam 26–28 November 2002. *Report of World Health Organization, regional office for the Western Pacific, Manila, Philippines.*
- O'Shea Y.A., Reen F.J., Quirke A.M., Boyd E.F., 2004.** Evolutionary genetic analysis of the emergence of epidemic *Vibrio cholerae* isolates on the basis of comparative nucleotide sequence analysis and multilocus virulence gene profiles. *J Clin Microbiol.* 42:4657-4671.

- Ouattara M., N'Guessan N.I., Yapi A., N'Goran E.K., 2010.** Prevalence and spatial distribution of *Entamoeba histolytica/dispar* and *Giardia lamblia* among schoolchildren in Agboville area (Côte d'Ivoire). *PLoS Negl Trop Dis* 4:e574.
- Pages J., Dufour P., Lemasson L., 1980.** Pollution de la zone urbaine de la lagune Ebrié (Côte d'Ivoire). In : *Doc sci. Centre recher-océanograph.* 9: 43-50.
- Paugam A., 2008.** Parasitoses et atteinte neurologique. *Revue Francophone des Laboratoires.* 399: 45-53.
- Pinot A., 2003.** Les crustacés. *Cours bio crustacés.* p. 13.
- Pedro A., Boris S., 2005.** Zoonoses and communicable diseases to man and animals. *World Organization for Animal Health* . p. 382.
- Pouillot R., Sanaa M., Dufour B., 2002.** Principes de l'appréciation quantitative probabiliste des risques. *Epidemiol. et santé anim.* 41: 95-112.
- Quian R., Xiao Z., Zhang C., Chu W., Mao Z., Yu L., 2008.** Expression of two major outer membranes proteins from *Vibrio alginolyticus*. *World J Microb Biotechno.* 24: 245-251.
- Quilici M.L., Robert-Pillot A., 2011.** Infections à vibrions non cholériques. *Encycl.Méd. Chir. (éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS, Paris), Maladies Infectieuses*, 8-026-F15.
- Quilici M.L., Robert-Pillot A., Picart J., Fournier J.M., 2005.** Pandemic *V. parahaemolyticus* O3:K6 spread, France. *Emerg Infect Dis.* 11:1148-9.
- Rao K., Tripathi S.D., 1993.** A manuel on giant freshwater prawn hatchery. Central Institute of Freshwater Aquaculture, *Indian Council of Agricultural Research, Kausalyaganga, Bhubaneswar, 751 002, ser. 2:* p. 50.
- Raso G., Lugimbühl A., Adjoua C.A., Tian-Bi N.T., Silué K.D., Matthys B., Vounatsou P., Wang Y., Dumas M.E., Holmes E., Singer B.H., Tanner M., N'goran E.K., Utzinger J., 2004.** Multiple parasite infections and their relationship to self-reported morbidity in a community of rural Côte d'Ivoire. *Int J Epidemiol.* 33:1092-1102.
- Rastoin J.L., 2007.** « Chapitre 1 - Risques et sûreté alimentaire dans un contexte de mondialisation » Vers une approche politique et stratégique, in *CIHEAM Mediterra Presses de Sciences Po « Annuels »*. pp. 29-71.

- Reidl J., Klose K.E., 2002.** *Vibrio cholerae* and cholera: out of the water and into the host. *FEMS Microbiol Rev.* 26: 125-139.
- Ripert C., 1996.** Distomatoses pulmonaires. In: Epidémiologie des maladies parasitaires. Tome 2: Helminthoses. *Editions Médicales Internationales, Cachan.* pp.148-164.
- Ripert C., Carrie J., Ambroise-Thomas P., Baecher R., Kum N.P., Same-Ekobo A., 1981.** Etude épidémiologique et clinique de la paragonimose au Cameroun. Résultat du traitement par niclofan. *Bull. Soc. Pathol. Exot.* 76:319-331
- Ritchie L.S., 1948.** An ether sedimentation technique for routine stool examinations. *Bull U S Army Med Dep.* 8: p. 326.
- Robert-Pillot A., Guénolé A., Lesne J., Delesmont R., Fournier J.M., Quilici M.L., 2004.** Occurrence of the *tdh* and *trh* genes in *Vibrio parahaemolyticus* isolates from waters and raw shellfish collected in two French coastal areas and from seafood imported into France. *Int.J. Food. Microbiol.* 91, 319-325.
- Robert-Pillot A., Guénolé A., Fournier J.M., 2002.** Usefulness of R72H PCR assay for differentiation between *Vibrio parahaemolyticus* and *Vibrio alginolyticus* species: validation by DNA-DNA hybridization. *FEMS Microbiol. Lett.*, 215: 1-6.
- Rodier J., Bazin C., Broutin J P., Champsaur H., Rodi L., 1996.** Analysis of Water: Natural water, Waste water, Sea waters. In: Dunod. 2nd edition. p1384.
- Sachs R., Cumberlidge N., 1991 a.** Notes on the ecology of *Homorus striatellus* (Rang, 1831), snail host of microcercous cercariae in Liberia, West Africa. *Z. Angew. Zool.* 78: 45-53.
- Sachs R., Cumberlidge N., 1991 b.** Metacercarial load of freshwater crabs *Liberonautes latidactylus* in an endemic paragonimiasis focus in Liberia, West Africa. *Z Angew. Zool.* 78: 161-165.
- Sack D.A., Sack R.B., Nair G.B., Siddique A.K., 2004.** Cholera. *Lancet.* 363: 223-233.
- Saka H.A., Bidinost C., Sola C., Carranza P., Collino C., Ortiz S., Echenique J.R., Bocco J.L., 2008.** *Vibrio cholerae* cytolysin is essential for high enterotoxicity and apoptosis induction produced by a cholera toxin gene-negative *V. cholerae* non-O1, non-O139 strain. *Microb pathog.* 44:118-28.

- Sanaa M., Cerf O., 2002.** La démarche d'analyse quantitative des risques de maladies infectieuses transmises par les aliments. *Epidémiol Santé Anim.* 41: 157-168.
- Schlundt J., 2002.** L'évaluation du risque comme outil de gestion du risque : Le cas des contaminants microbiens. Gestion de la sécurité des aliments dans les pays en développement. *Actes de l'atelier international, CIRAD-FAO. Montpellier, France CIRAD-FAO.*
- Sganga G., Cozza V., Spanu T., Spada P.L., Fadda G., 2009.** Global climate change and wound care: case study of an off-season *Vibrio alginolyticus* infection in a healthy man. *Ostomy Wound Manage.* 55:60-2.
- Short J.W., 2004.** A revision of Australian river prawns, *Macrobrachium* (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae). *Hydrobiologia.* 525:1-100.
- Sithiathaworn P., Sripa B., Kaewkes S., Haswell-Elkins M., 2009.** Food-borne trematodes, p. 1461–1476. In G. C. Cook and A. I. Zumla (ed.), *Manson's tropical diseases*, 22nd ed. Saunders, London, United Kingdom.
- Slesak G., Inthalad S., Basy P., Keomanivong D., Phoutsavath O., Khampoui S., Grosrenaud A., Amstutz V., Barennes H., Buisson Y., Odermatt P., 2011.** Ziehl-Neelsen staining technique can diagnose paragonimiasis. *PLoS Negl Trop Dis.* 5:e1048.
- Smeets P. W. M. H., Dullemont Y. J., Van Gelder P. H. A. J. M., Van Dijk J. C., Medema G. J., 2008.** Improved methods for modelling drinking water treatment in quantitative microbial risk assessment; a case study of *Campylobacter* reduction by filtration and ozonation. *Journal of Water and Health.* 301-314
- Staubli A. F., Adou P., Davidsson L., Cook J.D., Hurrell R.F., 2001.** Prevalence of iron deficiency with and without concurrent anemia in population groups with high prevalences of malaria and other infections: a study in Côte d'Ivoire. *Am J Clin Nutr.* 74:776-782.
- Steinmann P., Du Z., Wang L., Wang X., Jiang J., Li L., Marti H., Zhou X., Utzinger J., 2008.** Extensive multiparasitism in a village of Yunnan province, People's Republic of China, revealed by a suite of diagnostic methods. *Am J Trop Med Hyg.* 78:760-769.
- Strobel M., Tran D. S., 2004.** Paragonimose. Paragonimiasis douve du poumon, lung fluke. *IFMT.* p 46.
- Strobel M., Veasna D., Saykham M., Wei Z., Tran D.S., Valy K., Odermatt P., Dreyfus G., 2005.** La paragonimose pleuropulmonaire. *Med Mal Infect.* 35:476-481.

- Strom M S., Paranjpye R.N., 2000.** Epidemiology and pathogenesis of *Vibrio vulnificus*. *Microbes Infect.* 2: 177-88.
- Sugiyama H., Umehara A., Morishima Y., Yamasaki H., Kawanaka M., 2009.** Detection of *Paragonimus* metacercariae in the Japanese freshwater crabs, *Geothelphusa dehaani* bought at retail fish markets in Japan. *Jpn. J. Infect Dis.* 62:324-325.
- Tandon V., Prasad P.K., Chatterjee A., Bhutia P.T., 2007.** Surface fine topography and PCR-based determination of metacercaria of *Paragonimus* sp. from edible crabs in Arunachal Pradesh, Northeast India. *Parasitol Res.* 102:21-28.
- Tanon A.K., Eholie S.P., Ehui E., 2004.** Epidémie de choléra au C.H.U de Treichville (Abidjan) en 2001: aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques. *Méd Afr. Noire.* 51:559-566.
- Tantillo G.M., Fontanarosa M., Di Pinto A., Musti M., 2004.** Updated perspectives on emerging vibrios associated with human infections. *Lett Appl Microbiol.* 39: 117-26.
- Thompson C.C., Fabiano L., Thompson F.L., Vicente A.C.P., 2008.** Identification of *Vibrio cholerae* and *Vibrio mimicus* by multilocus sequence analysis (MLSA). *Int J Syst Evol Microbiol.* 58: 617-621.
- Thompson F.L., Gevers D., Thompson C.C., Dawyndt P., Naser S., Hoste B., Munn C.B., Swings J., 2005.** Phylogeny and molecular identification of vibrios on the basis of multilocus sequence analysis. *Appl Environ Microbiol.* 71 : 5107-5115.
- Thompson F.L., Iida T., Swings J., 2004.** Biodiversity of vibrios. *Microbiol. Molec. Biol. Rev.* 68: 403-431.
- Thompson F.L., Thompson C.C., Vicente A.C.P., Theophilo G.N.D., Hofer E., Swings J., 2003.** Genomic diversity of clinical and environmental *Vibrio cholerae* strains isolated in Brazil between 1991 and 2001 as revealed by FAFLP analysis. *J Clin Microbiol.* 41: 1946–1950.
- Thusfield M., 2007.** Veterinary epidemiology. *Blackwell Science Ltd : Oxford.* p. 610.
- Tiekoura K.B., Guessennd K.A.N., Anne B.J.C., Oussou K.R., Ekaza E., Adingra A.A., Ouattara G.D., Gbonon V.C., Houenou P., Dosso M. 2010.** Caractérisation moléculaire des souches de *Vibrio cholerae* non O1, non O139 isolées des eaux lagunaires de Grand-Lahou (Côte d’Ivoire). *Eur. J. Sci. Res.* 45:333-345.

- Toma B., Dufour B., Sanaa M., 2002.** Généralités sur l'analyse de risque. *Epidémiol. et santé anim.* 4:5-17.
- Toma B., 2002.** L'appréciation quantitative du risque : notions générales. *Epidémiol. et santé anim.* 41: 51-63.
- Tran D.S., Nanthapone S., Odermatt P., Strobel M., 2004.** A village cluster of paragonimiasis in Vientiane province, Lao PDR. *South East J Trop Med Public Health.* 35:323–6.
- Utzing J., Botero-Kleiven S., Castelli F., Chiodini P.L., Edwards H., Kohler N., Gulletta M., Lebbad M., Manser M., Matthys B., N'Goran E.K., Tannich E., Vounatsou P., Marti, H., 2010.** Microscopic diagnosis of sodium acetate-acetic acid-formalin-fixed stool samples for helminths and intestinal protozoa: a comparison among European reference laboratories. *Clin Microbiol Infect.* 16:267-273
- Utzing J., N'Goran E.K., Marti H.P., Tanner M., Lengeler C., 1999.** Intestinal amoebiasis, giardiasis and geohelminthiasis: their association with other intestinal parasites and reported intestinal symptoms. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 93:137-141.
- Vaillant V., Valk H., Baron E., 2004.** Morbidité et mortalité dues aux maladies infectieuses d'origine alimentaire en France. *Département maladies infectieuses, Institut de veille sanitaire.* pp 125-130.
- Veasna D., 2005.** La paragonimose au Laos. Etude épidémiologique et radio-clinique (2003-2005). Master en Médecine Tropicale et Santé Internationale IFMT – AUF – Université National Lao. p 55.
- Velez I.D., Ortega J., Hurtado M.I., Salazar A.L., Robledo S.M., Jimenez J.N., Velásquez L.E., 2000.** Epidemiology of paragonimiasis in Colombia. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 94:661-3.
- Vélez I., Velásquez L.E., Vélez I. D., 2003.** Morphological description and life cycle of *Paragonimus* Sp (Trematoda: Troglotremitidae): Causal agent of human paragonimiasis in Colombia. *J of Parasitol.* 89:749-755.
- Vezzulli L., Pezzati E., Moreno M., Fabiano M., Pane L., Pruzzo C., VibrioSea C., 2009.** Benthic ecology of *Vibrio* spp. and pathogenic *Vibrio* species in a coastal Mediterranean environment (La Spezia Gulf, Italy). *Microb Ecol.* 58:808-18.

- Ville J.P., 1970.** Recherche sur la reproduction des *Macrobrachium* des lagunes ivoiriennes. *Ann. Univ. Abidjan, Série E.* 3 : 253-261.
- Ville J.P., 1972.** Cycle ovarien saisonnier des *Macrobrachium vollenhovenii* (Herklots 1851), Décapode, Palaemonidae en Côte d'Ivoire. *Ann. Univ. Abidjan, Série E.* 5:561-576.
- Voelker J., Sachs R., 1977.** [On the distribution of the lung flukes, *Paragonimus africanus* and *P. uterobilateralis*, in the South West Province of Cameroon and in Eastern Nigeria as determined by examination of the intermediate crab hosts for infection with metacercariae (author's transl)]. *Tropenmed Parasitol.* 28:120-33.
- Voelker J., Vogel H., 1965.** Zwei neue Paragonimus Arten aus West Africa, *Paragonimus africanus* and *P. uterobilateralis*. *Tropenmed Parasit.* 16: 109-25.
- Vose D., 2008.** Risk analysis. A quantitative guide. *John Wiley et Sons, Ltd.* Third edition. p.727.
- Vose D., 2005.** ModelAssist Advanced for @Risk. Risk Thinking Ltd : Gent.
- Waldor M.K., Mekalanos J.J., 1996.** Lysogenic conversion by a filamentous phage encoding cholera toxin. *Science.* 272: 1910-1914.
- Whitfield P.J., 1982.** Parasitic helminths, p. 24–52. In F. E. G. Cox (ed.), *Modern parasitology*, 2nd ed. Blackwell Scientific Publishing, Oxford, United Kingdom.
- Xie Z.Y., Hu C.Q., Chen C., Zhang L.P., Ren C.H., 2005.** Investigation of seven *Vibrio* virulence genes among *Vibrio alginolyticus* and *Vibrio parahaemolyticus* strains from the coastal mariculture systems in Guangdong, China. *Letters in Applied Microbiology.* 41: 202-207.
- Zhang X.H., Austin B., 2005.** Haemolysins in *Vibrio* species. *J. Applied Microbiol.* 98: 1011-1019.
- Zwietering M.H., Van Gerwen S.J.C., 2000.** Sentivity analysis in quantitative microbial risk assessment. *Int. J. Food. Microbiol.* 58: 213-221.